

THÈSE

présentée

à la Faculté des Sciences de l'Université de Lyon

pour obtenir

le diplôme de Docteur du 3^e cycle en Biologie Animale Appliquée

par

Pierre TEULADE

VARIATIONS DE LA SENSIBILITÉ AUX RAYONS X DES ŒUFS DE *BOMBYX MORI*, EN FONCTION DU DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE ET DE LA DURÉE D'HIVERNATION

Soutenue le 5 juin 1964

devant la commission d'examen :

MM. NIGON, Président

LAVIOLETTE	}	examineurs
LEGAY		

Travaux du Laboratoire de Zoologie Expérimentale
de la Faculté des Sciences de LYON — n° 5

P i e r r e . T E U L A D E

VARIATIONS DE LA SENSIBILITE AUX RAYONS X
DES OEUFs DE BOMBYX MORI, EN FONCTION DU DEVELOPPEMENT
EMBRYONNAIRE ET DE LA DUREE D' HIVERNATION

LABORATOIRE DE ZOOLOGIE EXPERIMENTALE

FACULTE DES SCIENCES DE LYON

Travail réalisé avec le concours du Commissariat à l' Energie Atomique

Contrat 5863/r

UNIVERSITE DE LYON
FACULTE DES SCIENCES

Doyens Honoraires

MM. LONGCHAMBON, DOUIN, MOUSSA, GAUTHIER Henri.

Professeurs Honoraires

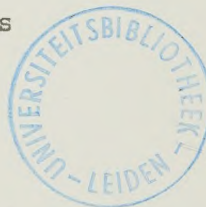
MM. LOCQUIN, de LARAMBERGUE, SOLLAUD, MENTZER, MOUSSA, JAFFARD, DOUIN,
Henri EYRAUD, DEJARDIN, VIRET.

Doyen

M. BRACONNIER

Assesseurs

MM. MESNARD
BOIDIN



Professeurs

MM. LONGCHAMBON	Minéralogie
PRETTRE	Chimie industrielle
COURTY	Chimie-Physique
KUHNER	Botanique
MALECOT	Mécanique rationnelle et appliquée
PARIS	Chimie minérale
AUMERAS	Chimie
COLONGE	Chimie organique
JANIN	Physique générale
FLANDRIN	Géologie appliquée
BERNARD	Physique industrielle
DUFAY Jean	Astronomie
NIGON	Zoologie expérimentale
GAUTHIER	Géologie générale
WAUTIER	Zoologie
CHOPIN	Chimie biologique
CUEILLERON	Chimie
BRACONNIER	Calcul différentiel et intégral
EYRAUD Charles	Chimie-Physique appliquée
SARAZIN	Physique nucléaire
BOIDIN	Microbiologie et Mycologie
PERES	Physiologie
MESNARD	Electronique
GRANDMONTAGNE	Physique

BOUTILLIER
 LAFOUCRIERE
 DREUX
 TEICHNER
 PAVANS de CECCATTY
 MERLIN
 DUFAY Maurice
 FRAISSE
 LUBET
 PHILBERT
 COHEN-ADAD
 DAVID Louis
 CHANEL
 MAURY
 DEPRAZ
 GAUTHIER Jean

Minéralogie
 Physique nucléaire
 Chimie organique
 Chimie industrielle
 Zoologie
 Chimie analytique
 Physique de l'Atmosphère
 Mathématiques
 Physiologie
 Physique nucléaire
 Chimie
 Géologie générale
 Psychophysiologie
 Méthodes Mathématiques de la Physique
 Physique nucléaire
 Chimie

Professeurs sans chaire

MM. GAUME	Physique
FERON	Mathématiques
LAFORGUE	Physique
LEGAY	Zoologie expérimentale S.P.C.N.
UZAN	Physique S.P.C.N.
CHENEVOY	Géologie appliquée
GINET	Zoologie
ASCH	Physique
MICHEL Pierre	Minéralogie
DUCET	Biologie végétale

Maîtres de Conférences

Mle MAITROT	Physique
Mme ERICSON	Physique générale
MM. GEVIN	Géologie générale
PONASSE	Mathématiques
d'INCAN	Physique
MARTEL	Mécanique
LEFEBVRE	Mathématiques
PERNET	Mathématiques
CHERY	Physique
BERGEON	Physique C.S.U.
Mle GAUTHERON	Chimie biologique
MATHIEU	Mécanique des fluides
ERBEIA	Physique
DESCOTES	Chimie organique
PICARD Philippe	Mathématiques
LEMOIGNE	Botanique
DEMARCO	Géologie générale
MICHEL Georges	Biochimie
LEBRETON	Biologie végétale
DAVID Jean	Biologie animale
TOUSSET	Chimie propédeutique
FEUVRAIS Louis	Physique Electricité

PICARD Claude
SCHMITT Roger

Mathématiques
Physique M.P.C.

Maître de Conférences adjoint

M. PIERRON

Chimie

Conseiller Administratif

M. BURNET

Secrétaire Principal Honoraire

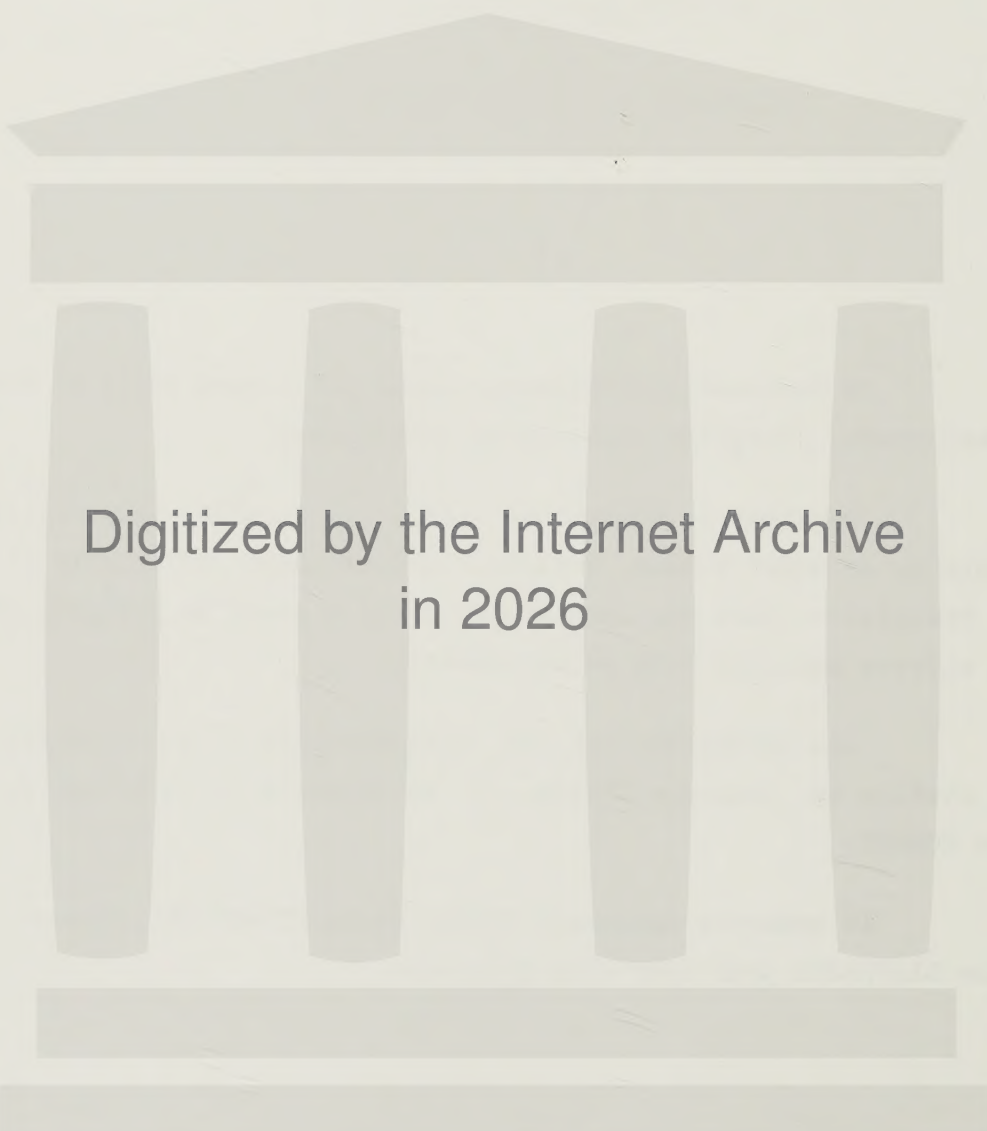
M. ROUX

A Monsieur le Professeur NIGON qui a bien voulu s' intéresser à mes recherches, j' exprime toute ma reconnaissance.

Monsieur le Professeur LEGAY m' a guidé dans ce travail et m' a permis de le mener à bien. Monsieur le Professeur LAVIOLETTE m' a autorisé à travailler dans son laboratoire et m' a donné de précieux conseils. Je leur adresse mes plus vifs remerciements.

Ces recherches ont été réalisées grâce au matériel fourni par la Station de Zoologie d'Alès. J' en remercie vivement son directeur, Monsieur SCHENK.

Je remercie également Mademoiselle BRANDOLINI, Madame GUERRIER et Madame SZAFRANEK pour leur aide précieuse.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553420_0010

S O M M A I R E

	Pages
INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES	
CHAPITRE I : Action des radiations ionisantes	
A - Interaction des radiations ionisantes et des processus métaboliques	3
B - La restauration	8
C - Conclusions	17
CHAPITRE II : Physiologie de l'oeuf de Ver à soie	
A - Développement embryonnaire	18
B - La diapause	19
C - Conclusion	23
CHAPITRE III : Examen critique des expériences effectuées sur les oeufs de <u>Bombyx mori</u>	
A - Expériences de LAMARQUE et al.	24
B - Expériences de PAULOV	25
CHAPITRE IV : Plan expérimental	
A - Etudes préliminaires	28
B - Irradiation dans les conditions normales	29
C - Modifications liées à l'irradiation	29
D - Modifications de la physiologie de l'embryon	30
DEUXIEME PARTIE : TRAVAUX PERSONNELS	
CHAPITRE I : Matériels et techniques	
A - Matériels	31
B - Techniques	33

CHAPITRE II	: Etude des témoins	41
A	- Conditions normales	
B	- Variations du temps de développement et de la mortalité en fonction de la durée d'hivernation	46
CHAPITRE III	: Irradiation dans les conditions normales	
A	- Présentation d'exemples	52
B	- Interprétation	58
C	- Conclusion	61
CHAPITRE IV	: Modification des conditions de l'irradiation	
A	- Début du développement embryonnaire	63
B	- Diapause	68
C	- Reprise du développement embryonnaire après élimination de la diapause	72
D	- Conclusion	73
CHAPITRE V	: Modification de la physiologie de l'embryon	
A	- Expériences effectuées sur des oeufs de juin 1961	75
B	- Expériences réalisées sur des oeufs de juin 1962	77
C	- Interprétation	78
D	- Action du froid après irradiation	80
E	- Conclusion	82
CHAPITRE VI	: Modifications simultanées des conditions d'irradiation et des conditions physiologiques	
A	: Expériences effectuées sur des oeufs de juin 1962	83
B	- Expériences effectuées sur des oeufs de juin 1961	84
C	- Interprétation	85
D	- Conclusion	86

TROISIEME PARTIE : CONCLUSIONS GENERALES

CHAPITRE I	: Discussion des résultats	
A	- Rappel des résultats obtenus	88
B	- Validité des résultats obtenus	90
CHAPITRE II	: Interprétation	
A	- Action des radiations ionisantes	93
B	- Variation de l'état physiologique de l'oeuf de <u>Bombyx mori</u>	93
C	- Interprétation des variations de radiosensibilité	95
D	- Conclusion	97

INTRODUCTION

L' effet des radiations ionisantes sur les êtres vivants a été très étudié. Pendant longtemps, on s'est intéressé essentiellement à leur action, sur la mortalité d' une part, sur les mutations chromosomiques d'autre part. On a constaté ainsi qu' un bon nombre de facteurs influaient sur la radiosensibilité : le mode d'administration, la tension d'oxygène et la température notamment. Les applications pacifiques et militaires de l'énergie nucléaire prenant sans cesse de l' ampleur, les radiobiologistes ont été conduits à rechercher parmi ces facteurs ceux qui pouvaient permettre d'augmenter la résistance aux radiations, c'est ainsi que de très nombreuses études ont été consacrées aux radioprotecteurs chimiques.

On a relié plus récemment la radiosensibilité à l' activité métabolique des individus, en remarquant en particulier qu' un abaissement du métabolisme constituait une bonne protection contre les radiations.

Actuellement une notion, connue depuis longtemps, la restauration, tend à prendre une importance sans cesse grandissante. Un organisme peut, en effet, résister aux radiations (ou à tout autre stress) soit parce qu'il est peu sensible à leur action, soit parce qu' il peut réparer les dégâts causés. Cette faculté de réparation, ou mieux de restauration, paraît étroitement liée à l'état physiologique de l'individu.

J'ai ainsi été amené à m'intéresser aux variations de radiosensibilité d'un individu, en fonction de son état physiologique.

L'oeuf de Bombyx mori est un matériel commode, bien connu, souvent utilisé en radiobiologie, et qui a notamment l'avantage de présenter une phase au métabolisme très particulier, la diapause. On peut en outre, modifier à volonté l'état physiologique de l'oeuf en lui faisant subir des durées variables d'hivernation.

Ces considérations m'ont conduit à choisir l'oeuf de Bombyx mori pour l'étude des variations de radiosensibilité en fonction de l'état physiologique.

P R E M I E R E P A R T I E

D O N N E E S B I B L I O G R A P H I Q U E S

C H A P I T R E I : A C T I O N D E S R A D I A T I O N S I O N I S A N T E S

Bien que ce problème soit assez récent, il a donné lieu à la publication d'un très grand nombre d'ouvrages dont aucun ne peut réellement prétendre faire autorité. De nouvelles hypothèses se font jour constamment, cependant les théories dites de "l'action directe" et de "l'action indirecte", qu'on oppose de façon un peu artificielle, continuent de rallier la majorité des suffrages.

Il ne s'agit pas ici pour moi de prendre parti, ni de tenter une synthèse, mais simplement de rapporter un certain nombre d'observations susceptibles d'éclairer mon propos. Dans une première partie, j'étudierai l'aspect biochimique de l'effet des radiations et ses relations avec le métabolisme, et dans une seconde partie, je tenterai de définir la restauration.

A - I N T E R A C T I O N D E S R A D I A T I O N S I O N I S A N T E S E T D E S P R O C E S S U S M E T A B O L I Q U E S

Il n'est pas très facile d'observer l'action des radiations ionisantes à un niveau moléculaire sur des êtres vivants. ORD et STOCKEN (1) entre autres, ont mis en évidence ces difficultés dues essentiellement aux réarrangements qui interviennent très vite après les irradiations. Aussi pendant longtemps s'est-on contenté de faire ces observations "in

vitro". On a trouvé ainsi que les systèmes enzymatiques étaient affectés seulement par de très fortes doses de rayonnement, d'où on a conclu hâtivement que ces systèmes n'étaient pas impliqués dans la radiosensibilité des organismes.

Cependant de nombreux auteurs (2, 3) ont constaté que les êtres vivants sont d'autant moins sensibles aux radiations que leur métabolisme est moins élevé. Ceci a conduit à accorder une grande importance aux processus métaboliques, donc aux systèmes enzymatiques et notamment à ceux qui sont liés à la respiration intracellulaire. Récemment, un médecin italien, ROSSI (4) a proposé une hypothèse attribuant la majeure partie des dégâts provoqués par les rayonnements ionisants à leur action sur les hémoprotéines. Celles-ci, qui jouent un rôle fondamental dans les transports d'électrons, seraient oxydées de façon irréversible sous l'effet des radiations. Cette hypothèse n'a pas été étudiée très sérieusement et il ne saurait être question de lui accorder la valeur générale que lui attribue son auteur, cependant, elle rend compte de certains phénomènes. Elle permet, par exemple, d'expliquer les effets de la tension d'oxygène. L'équilibre des systèmes oxydo-réducteurs est déplacé vers l'état oxydé chez des organismes en hyperoxie, l'inverse se produisant lors de l'hypoxie (SCANO cité par ROSSI). Il y a synergie entre l'effet des rayonnements et l'hyperoxie, et au contraire antagonisme entre ce même effet et l'hypoxie.

De nombreux auteurs ont mis en évidence la radiosensibilité des transporteurs d'électrons.

METCALF (5) a montré que l'oxydation des suspensions d'hémoglobine en méthémoglobine, par des solutions isotoniques de nitrite, était activée par les radiations ionisantes. Chez des rats ayant reçu 500 rads la sensibilité de l'hémoglobine augmente rapidement et reste plus élevée pendant trois mois. Si la dose est plus faible (250 rads) l'action sur l'hémoglobine est différée et se fait sentir moins longtemps. Cette activation serait liée essentiellement à l'action des rayonnements sur les processus de phosphorylation oxydative.

Le cytochrome C est très sensible aux radiations. SCAIFF et HILL (6) ont observé que les mitochondries de divers organes de lapin,

irradiés "in vivo" à 800 rads de rayons X ou gamma, présentaient des lésions du système transporteur d'électrons se traduisant par un découplage des réactions de phosphorylation oxydative. L'adjonction de cytochrome C, nécessaire au rétablissement de ce couplage chez les mitochondries irradiées, n'a aucun effet stimulant sur les mitochondries normales. Il semble donc bien qu'une altération, ou une disparition, de ce corps joue un rôle primordial dans le découplage observé. Les mêmes auteurs ont constaté qu'on n'observait rien de semblable "in vitro", même après 4000 rads.

Une activité métabolique suffisante est nécessaire à la manifestation des effets des radiations.

ORD et STOCKEN (1, 7), irradiant des rats vivants, ont constaté que deux types de réactions étaient très rapidement affectés par les rayonnements.

La fixation d'adénosine triphosphate (ATP) sur les nucléosides dans le noyau est inhibée à 100% trois minutes après une irradiation à 50 ou 100 roentgens (dans la rate et le thymus) ; la réduction de la prise de précurseur de l'ADN suit de peu.

La phosphorylation oxydative est découplée au niveau des mitochondries. Si le substrat est du succinate, cet effet est visible quatre heures après 100 roentgens dans la rate et après 50 roentgens dans le thymus. Après 700 roentgens cet effet se produit au bout de deux heures dans la rate. La phosphorylation reprend si l'on ajoute du cytochrome C aux mitochondries.

L'effet sur le noyau serait le principal, l'effet sur le cytoplasme intervenant surtout en aggravant le premier (sans doute en inhibant la restauration).

Pour les auteurs, ces phénomènes sont une conséquence de l'oxydation des groupements -SH. Dans le noyau, ces groupements seraient réduits par une glutathion-réductase et il y aurait de ce fait formation de glutathion oxydé, ce dernier inhibant la phosphorylation nucléaire. Par ailleurs, le déséquilibre -SH / -S-S- ainsi produit perturberait gravement les mitoses.

Si ces observations étaient confirmées, elles permettraient d'expliquer une bonne partie de l'action des radiations.

Un muscle de Rana pipiens isolé perd rapidement ses facultés de contraction lorsqu'il est soumis aux rayonnements. PORTELA et al. (8) ont constaté que cette diminution d'activité n'était pas due à une action propre sur les propriétés mécaniques des fibrilles. Sous l'action des radiations, les systèmes transporteurs d'électrons sont lésés, et il y a découplage des réactions de phosphorylation oxydative. L'ADP s'accumule, il n'y a pas formation d'ATP. Si on fait travailler le muscle, celui-ci épuise très rapidement ses réserves d'ATP et, dès lors, ne peut plus se contracter.

L'effet des radiations sera vraisemblablement moins important chez des organismes où la demande d'énergie est plus faible. BEYER (9) a montré que les rats acclimatés au froid présentaient un découplage des réactions de phosphorylation oxydative, la respiration intracellulaire s'effectuant par l'intermédiaire de transporteurs d'électrons autres que les cytochromes. Or diverses expériences montrent que des rats en hibernation sont plus résistants que des rats vivant dans des conditions normales.

ASHWOOD-SMITH et LEONG (3) ont étudié l'effet des irradiations sur des rats vivants, en mesurant le taux de mitoses aberrantes sur des cellules de foie après hépatectomie partielle. Avec 450 rads de rayons X, ce taux est de 37%. Si l'on irradie des rats soumis à une basse température (température rectale 1°C) le taux devient de 9%.

Chez les Poecilothermes, le métabolisme est d'autant plus faible que la température est plus basse ; l'hypothermie doit donc entraîner une diminution des effets. KOVALEVA (10) a étudié la radiosensibilité de deux populations de Paramecium caudatum vivant, l'une à 4°C, l'autre à 22°C. Les paramécies vivant à basse température ont un métabolisme plus bas et possèdent des réserves lipidiques fort importantes. Lorsqu'on irradie ces deux populations (à 75 kilorads de rayons X), on constate que le métabolisme des paramécies vivant à 4°C est peu affecté alors que celui des paramécies normales est sérieusement modifié ; il y a accumulation de lipides et diminution du glycogène. Les processus d'oxydoréduction sont modifiés et il semble que le métabolisme normal soit "détourné" vers la synthèse des lipides. La même différence de sensibilité s'observe en ce qui concerne le rythme des divisions.

Si on bloque la cytochrome oxydase en injectant à des souris du cyanure, la mortalité à 580 roentgens passe de 100 à 70%. L'influence de l'activité des enzymes respiratoires sur la radiosensibilité est ainsi mise en évidence. Le fait que les cytochromes se trouvent à l'état réduit est sans doute responsable de cette moins grande sensibilité (HERVE et BACQ, II).

Conclusion

Ces expériences mettent surtout en évidence la très grande sensibilité des processus d'oxydoréduction. Cette diminution se traduit essentiellement par une diminution de la production et du stockage d'énergie sous forme d'ATP ; elle semble due à une destruction, ou tout au moins une dénaturation, du cytochrome C par les radiations. La diminution de la production d'énergie entraîne une certaine inhibition des synthèses. Cette inhibition sera très ressentie dans une phase d'activité intense, en particulier lorsque le rythme de division cellulaire est élevé.

Plusieurs auteurs ont signalé le ralentissement de l'activité mitotique sous l'effet des radiations, ce ralentissement provenant d'un allongement de la période inter-mitotique. On parle souvent d'un "blocage" qui paraît un peu mystérieux. Des expériences récentes de TAYLOR (12) permettent sans doute de donner une autre explication. Cet auteur a constaté que l'inhibition des synthèses protéiques, par un inhibiteur spécifique (la puromycine) entraînait une réduction similaire de la vitesse de croissance d'une culture de cellules. Les mitoses ne peuvent reprendre que lorsque certaines protéines indispensables ont été synthétisées. Si la vitesse de synthèse devient inférieure à un certain seuil, l'inhibition est irréversible et les cellules dégénèrent.

Les rayonnements ionisants pourraient avoir une action similaire puisqu'ils entraînent une inhibition des synthèses. L'allongement de la période inter-mitotique proviendrait non pas d'un "blocage", mais du temps nécessaire à la synthèse des facteurs indispensables. Si au lieu de prendre une culture de cellules, on prend un jeune embryon, le résultat observé sera le même, il y aura un ralentissement pour des doses faibles. Pour des doses fortes, il y aura apparition de la mortalité (je ne m'intéresse pas

aux effets tératogènes, non plus qu' aux mutations, mon hypothèse ne vise donc pas à interpréter ces phénomènes).

Le ralentissement observé par TAYLOR est proportionnel au degré d'inhibition des synthèses. Dans le cas des rayons X il est proportionnel à la dose. L' allongement du temps de développement embryonnaire sous l'effet des radiations serait donc proportionnel à la dose reçue. Ce phénomène constituerait ainsi un critère beaucoup plus sensible que la mortalité, puisqu'il est affecté par des doses n'ayant pas d'action sur cette dernière.

B - LA RESTAURATION

I) Définition

On a remarqué très vite que l' action des rayonnements ne dépendait pas seulement de la dose, mais aussi de la manière dont elle était administrée. En particulier, lorsqu'une certaine dose est délivrée en plusieurs fractions, séparées par des intervalles de temps suffisants, l'effet est moindre que lorsque cette même quantité est délivrée en une seule fois. On admet qu'entre les expositions fractionnées, l'organisme répare, tout au moins en partie, les dégâts causés. Les Anglo-Saxons désignent ce phénomène par le terme de recovery que nous traduisons généralement par restauration.

Il s' agit là d'un processus extrêmement général : tout être vivant soumis à un choc (ou stress) tend à réparer les dommages subis (on pourrait même étendre cela aux systèmes inertes). Dans cet exposé toutefois, je me limiterai à l'étude de la restauration après irradiation.

Très souvent, lorsqu'on parle de restauration, on entend par là un retour, plus ou moins complet, à l'état initial. Cette interprétation est tout à fait valable lorsqu' on considère un organisme dans un état stable ; c'est le cas pour un mammifère adulte, entre autres. Par contre, si on s'intéresse à un organisme en phase de croissance rapide, un embryon par exemple, il n'en va pas de même. On ne peut plus définir la restauration comme un retour à l'état précédant l'irradiation, mais comme une tendance

à atteindre l'état où se trouverait l'organisme au même moment s'il n'avait pas été irradié. Certains emploient alors le terme de régulation, donnant ainsi l'impression qu'il s'agit d'un mécanisme différent. Je pense qu'il n'en est rien, la définition "dynamique" de la restauration couvrant un processus général, dont l'interprétation habituelle, que l'on peut qualifier de "statique", ne constitue qu'un cas particulier.

Un des premiers effets des irradiations sur un organisme en voie de croissance rapide, comme un embryon, est un ralentissement. J'ai interprété ce dernier à l'aide de l'hypothèse de TAYLOR (12). Cet auteur admet que les mitoses reprennent seulement lorsque certaines protéines ont été synthétisées. Cette synthèse est une forme de restauration qui demande d'autant plus de temps que l'inhibition est plus forte (le temps au bout duquel le nombre de cellules a doublé passe de 22 à 108 heures lorsque la vitesse relative de synthèse protéique passe de 1 à 0,21). L'augmentation de la durée de la phase intermitotique est donc directement proportionnelle à la restauration quel que soit l'agent inhibiteur. L'allongement du temps de développement embryonnaire est lié à l'allongement de cette phase, il sera donc également proportionnel à la restauration.

La définition dynamique de la restauration aboutit donc à une notion que n'aurait pas permis de dégager la définition classique.

2) Caractéristiques

On limite très souvent l'importance de la restauration en considérant qu'elle existe seulement dans les cas où on peut mettre en évidence une diminution des effets avec le temps. En réalité, dès qu'un organisme est irradié, il tend à réparer, et ce que nous observons le plus souvent n'est pas l'effet propre des radiations, mais la résultante de celui-ci et de la restauration. (L'allongement du temps de développement embryonnaire, paraît toutefois directement proportionnel à l'effet propre ; il constituerait donc un critère de la radiosensibilité propre). Il y a là une sérieuse difficulté pour les chercheurs qui veulent étudier l'action des radiations "in vivo", pour les biochimistes surtout. ORD et STOCKEN (1) en particulier, l'ont bien mis en évidence.

Si la restauration est un phénomène plus général qu'on ne le

croît habituellement, il est par contre un peu excessif de parler de restauration totale. Certes, l'organisme répare et cette réparation peut paraître parfaite, il n'en reste pas moins qu'elle laisse des traces, provoquant ainsi une usure. Plusieurs expériences récentes confirment cette manière de voir.

JONARD (13) irradie des fragments de tissu du "crown-gall" du Scorsonère, cultivé "in vitro", à 1000 roentgens de rayons X. La croissance inhibée à 50%, se rétablit progressivement pour atteindre son niveau normal au bout de huit mois. Deux ans plus tard des fragments de ce même tissu sont à nouveau irradiés à 500 et 1000 roentgens. Ils présentent une sensibilité nettement supérieure à celle des fragments irradiés pour la première fois. Ces derniers proviennent des témoins de la première expérience, ils présentent donc le même degré de vieillissement que les fragments irradiés deux fois.

BALDWIN, SUTHERLAND, et HABOWSKY (14) étudient l'effet des rayons X sur l'activité électrique spontanée de l'oeil de Blaberus giganteus. Celle-ci diminue avec la dose reçue pour devenir nulle après 12 000 roentgens. Une certaine restauration intervient après une heure de repos, mais l'activité ne revient jamais au niveau initial. Par ailleurs, si l'on irradie à nouveau l'animal, la dose nécessaire pour obtenir la cessation de l'activité devient plus faible.

METCALF (5) a observé des phénomènes similaires lors de l'irradiation de suspensions d'hémoglobine.

Chez les mammifères, les irradiations chroniques accélèrent le vieillissement. CASARETT (15) attribue ce processus essentiellement à l'action sur les artérioles. Celles-ci réagissent aux rayonnements en épaississant leur paroi aux dépens de la lumière du vaisseau, avec remplacement du tissu musculaire par du tissu fibreux. Il s'agit donc là d'un cas typique de réparation entraînant une usure de l'organisme.

Ces observations, faites sur des matériaux très variés, mettent bien en évidence le côté imparfait de la restauration. Il est possible toutefois que dans certains cas on puisse avoir une restauration totale. Je pense en particulier aux insectes à l'état embryonnaire ou larvaire. Les mues, et surtout les mues nymphale et imaginale, entraînent de tels bouleversements qu'il est possible que l'adulte ne conserve aucune trace des

dégâts causés par les rayonnements chez la larve. Il est effectivement difficile de mettre en évidence les effets chez l'adulte lorsque l'irradiation a eu lieu à l'état larvaire. CLARK (I6) a cependant observé une diminution de la durée de vie des adultes de Habrobracon sp lorsque ceux-ci ont reçu une dose suffisante à l'état larvaire.

Une telle absence de transmission entre larve et adulte s'observe dans le cas du parasitisme protélien. Lorsqu'un insecte est parasite vrai, à l'état larvaire seulement, la morphologie de l'adulte ne se ressent pas des modifications parfois très importantes subies par la larve. GRASSÉ (I7) a interprété ce phénomène en admettant que les disques imaginaux jouissaient, à l'égard des tissus larvaires, de la même indépendance que le germe à l'égard du soma.

A l'intérieur de la larve les disques imaginaux se trouvent dans un état de repos que l'on peut rapprocher de l'état de diapause, et de ce fait ils doivent être peu sensibles à l'action des radiations. Il est possible que des doses très fortes pour la larve n'aient aucune action sur les disques imaginaux. Les tissus adultes provenant de ces disques, ne pourraient donc être affectés par les irradiations subies par la larve. La restauration interviendrait seulement pour les tissus qui subsistent de l'état larvaire à l'état adulte (ceux du système nerveux ou du tube digestif, par exemple).

Le fait que l'insecte adulte ne paraisse pas se ressentir des irradiations subies par la larve, ne prouve donc pas qu'il y ait eu restauration complète.

3) Influence des radiations

a) Nature

L'efficacité biologique relative (RBE) dépend de la nature des radiations, il est donc vraisemblable que celles-ci influent également sur la restauration. Par exemple, GRAY - cité par WHITING (I8) - étudiant la protection apportée par l'anoxie, a noté des différences suivant la nature des rayonnements. Le coefficient de protection serait de 1,2 pour les rayons alpha, 1,4 pour les neutrons et 2,6 pour les rayons X et gamma.

b) Dose

Il est évident que, si la dose est suffisante pour tuer l'organisme sur le champ, il ne peut y avoir restauration. On conçoit donc très bien qu'il y ait un seuil maximal au-delà duquel il n'y ait plus de restauration. Si l'organisme meurt après un certain délai, il y a vraisemblablement eu restauration, mais celle-ci a été insuffisante. L'existence d'un seuil minimal est beaucoup plus discutable. En matière de mutation en particulier, il semble bien qu'une irradiation, si faible soit-elle, ait toujours une action, et induise de ce fait une certaine restauration.

Entre ces deux limites éventuelles, le degré de restauration est inversement proportionnel à la dose, le délai nécessaire étant, quant à lui, directement proportionnel. SADO (19) a soumis à diverses doses de rayons X des gonades mâles de larves de Bombyx mori. Après 100 roentgens, la restauration, paraissant complète, a lieu rapidement; après 1 000 roentgens, les spermatogonies sont régénérées en moins d'une semaine; par contre, après 4 000 roentgens, aucune restauration n'est perceptible après onze jours.

c) Intensité et mode d'administration

Une faible intensité (ou débit de dose) favorise la restauration, les tissus commencent à se rétablir rapidement, avant même la fin de l'irradiation. C'est ce qui explique qu'une irradiation continue ait, à dose égale, un effet beaucoup moins important qu'une irradiation aiguë.

Si l'irradiation est fractionnée, le degré de restauration dépend de l'intervalle de temps séparant les applications successives. Les expériences de JEFFERIES et CORNWELL (20) sur Calandria granaria montrent qu'il existe pour une dose donnée un délai minimal nécessaire à la restauration (une heure dans l'expérience citée).

GROSCH et SULLIVAN - cités par GROSCH (21) - ont étudié la restauration de l'oviposition chez Habrobracon juglandis. L'oviposition est freinée par 2 500 roentgens et pratiquement stoppée après 5 000 roentgens. Si on soumet les guêpes à deux irradiations à 2 500 roentgens, séparées par des intervalles de temps différents, on constate que la durée optimale est

de six heures. Au-delà, le degré de restauration n'augmente pratiquement pas, bien que l'oviposition reste encore freinée. Cette expérience montre également que la restauration n'est jamais totale.

4) Influence des conditions biologiques

a) Conditions internes

L'influence du jeûne d'une part, de la composition de la nourriture d'autre part, n'est pas encore élucidée.

La sensibilité aux radiations augmente avec le vieillissement. Cette augmentation semble due à une diminution des facultés de restauration bien plus qu'à un accroissement de la susceptibilité propre du tissu.

Encore que cela ne fasse pas partie à proprement parler des conditions internes, je voudrais évoquer ici l'interaction des radiations avec d'autres formes de stress.

Si des rats sont soumis à des chocs électriques avant irradiation, ils manifestent une radiosensibilité identique à celle des témoins. Si le même traitement est effectué après irradiation, la radiosensibilité est grandement accrue (HALL et SCHNEIDER -22-).

BALDWIN et NARRAWAY (23) ont fait des observations similaires sur un chalcide (Dahlbominus). Une exposition de 50 minutes à une température de 43°C est sublétales pour ces insectes. Si après un tel traitement, on les soumet à une irradiation de 8 000 roentgens, la mortalité reste négligeable. Par contre, si on inverse l'ordre des facteurs, la mortalité est de 100%.

Ces deux expériences s'interprètent facilement si l'on admet que les chocs, infligés après l'irradiation, inhibent les possibilités de restauration. Elles mettent en évidence la très grande influence de la restauration sur la radiosensibilité observée.

Il y a ainsi une sorte de synergie entre les irradiations et les autres stress. On peut la rapprocher de celle qui s'observe entre le pyrèthre et ses synergistes. Ces derniers n'ont pas d'action toxique propre, mais ils bloquent les mécanismes de détoxification, empêchant ainsi la "restauration" (24). Le même phénomène se produit entre le DDT et ses analogues structuraux.

b) Conditions de milieu

- Température

Le froid est le plus souvent considéré comme un inhibiteur de la restauration. HENSHAW - cité par WHITING (18) - a montré que les oeufs d'Arbacia placés à 0°C après irradiation présentaient un degré de restauration moindre que ceux qui étaient restés à 24°C.

Par contre COOK - cité par Van BERKUM (25) - avait obtenu des résultats très différents sur les oeufs d' Ascaris. Après irradiation ces oeufs étaient divisés en deux groupes : 1' un étant mis en incubation (à 25°C) immédiatement, l'autre passant huit semaines à 5°C avant d'être mis en incubation. Dans le premier groupe, il y avait seulement 1 à 2% d'embryons normaux, il y en avait 45% dans le second.

Ces observations ne sont peut-être pas aussi contradictoires qu'elles le paraissent. Il est fort possible qu'il n'y ait pas de restauration à 0°C et qu'il y en ait à 5°C. Par ailleurs, le froid appliqué après une irradiation agit de deux manières opposées. D'une part, il freine la restauration, d'autre part il empêche les dégâts causés par les rayonnements de s'accroître. L'importance relative de ces deux phénomènes dépend du temps qui s'écoule entre l'irradiation et la mise au froid. Si cette dernière a lieu immédiatement, elle diminue l'action des radiations ; par contre, si elle a lieu après un certain délai, les rayonnements ont eu la possibilité de causer leurs dommages et la basse température, inhibant la restauration, jouera un rôle défavorable.

- Teneur en oxygène

L'hypoxie joue un rôle analogue à celui de l'hypothermie, freinant en même temps l'effet des radiations et la restauration. Un organisme placé dans des conditions d'anoxie, immédiatement après irradiation, en reçoit une certaine protection qui permet une meilleure restauration ultérieure. C'est ce que montre l'expérience réalisée par BACHOVER sur les oeufs d' Ascaris lumbricoïdes suum. Cet auteur irradie aux rayons X des oeufs fertilisés, à des doses de 24 et 240 kilorads. Il utilise comme test la fusion des pronuclei. Celle-ci n'a lieu qu'en présence d'oxygène. Si après l'irradiation, les oeufs passent 24 heures en anaérobiose, la fusion

est beaucoup plus rapide lorsqu' on revient en condition aérobie (cité par WHITING -18-).

En conclusion, il semble que tout ce qui bloque l' évolution des effets des radiations, sans pour autant stopper le métabolisme de l' organisme irradié, soit favorable à la restauration.

SOMMER et al. (26) l'ont montré avec des suspensions de sporangiospores de Rhizopus solonifer. Une irradiation à 500 kilorads entraîne une mortalité supérieure à 99%. Si tout de suite après le traitement, on inhibe la germination en réalisant une suspension très dense, on obtient près de 50% d' éclosions, lorsqu' on permet la reprise de la germination deux jours plus tard.

On peut penser que l'irradiation inhibe la formation d'un certain nombre de molécules nécessaires à la vie de l' organisme, celles d'ATP notamment. Si l' activité subséquente est faible, les molécules préexistantes suffisent à assurer la survie normale ; la restauration s'effectue et les dégâts sont peu apparents. Par contre, si cette activité est forte, les molécules préexistantes sont insuffisantes, il y a rupture entre la fourniture et les besoins, et les dégâts se manifestent.

On peut illustrer ce processus par le schéma suivant emprunté à la pathologie végétale.

Il existe une maladie de la vigne, l'Esca, due à des champignons qui obstruent les vaisseaux. Cette maladie présente des aspects différents suivant les conditions climatiques.

Dans la région lyonnaise, elle se traduit par une perte progressive de vigueur des ceps atteints. Si le traitement a lieu assez tôt, les ravages ne s'étendent pas, les pieds survivent et réparent peu à peu les dégâts. Dans le Midi méditerranéen, où l'évaporation est beaucoup plus intense, il y a souvent rupture de la colonne de sève, le cep flétrit en quelques heures, et le plus souvent meurt.

Pour réaliser une étude complète de la restauration, il faudrait maintenant passer aux mécanismes. Jusqu'ici, en effet, je me suis intéressé seulement à l'aspect "macroscopique" de ce phénomène. Je n'aborderai pas ce problème très complexe et fort mal connu. Il est extrêmement difficile

à étudier sur un organisme vivant, et pratiquement les seules données que nous possédons proviennent d'expériences effectuées sur des cultures de cellules cancéreuses. KALLMAN (27) a été ainsi amené à distinguer deux phases dans la restauration : d'une part la restauration proprement dite, qui est le retour à un état normal de la cellule touchée elle-même, d'autre part une phase de régénération qui correspond au remplacement des cellules mortes par de nouvelles cellules. Je crois qu'il est prématuré de faire de telles distinctions.

5) Conclusion

Ce bref exposé met en évidence l'importance fondamentale de la restauration et permet de dégager quelques caractéristiques importantes de ce phénomène.

Dans le cas général, la restauration ne peut pas être considérée comme un retour à l'état précédant l'irradiation ; elle est une tendance à atteindre l'état où se trouverait l'organisme au même moment s'il n'avait pas été irradié. C'est seulement lorsqu'on traite un animal dans un état stable, par exemple un mammifère adulte, que l'on peut considérer la restauration comme un retour à l'état initial.

Ce phénomène intervient pratiquement toutes les fois où un être vivant est irradié, même s'il n'est pas possible de le mettre en évidence. Il nous est pour cette raison très difficile d'observer l'effet propre des radiations, nous ne voyons généralement que le résultat de l'interaction de cet effet et de la restauration. Cette dernière joue de ce fait, un rôle capital dans la radiosensibilité observée. On s'en convainc aisément en inhibant la restauration par l'application d'un stress, ou en suivant l'augmentation de radiosensibilité chez un organisme qui perd ses facultés de restauration (par exemple lors du vieillissement).

La restauration n'est jamais parfaite. Il se peut qu'aucun effet observable ne subsiste, il n'en reste pas moins que l'organisme a subi une certaine usure.

La restauration est favorisée d'une part par ce qui étale l'irradiation sur un temps plus long (fractionnement, faible débit de dose), d'autre part par ce qui diminue les besoins de l'organisme après le traitement. Si l'on considère que l'irradiation crée en certains points des gou-

lots d'étranglement, tout ce qui permet de conserver l'équilibre entre fourniture et demande à ce niveau aide la restauration.

Une activité intense, ou l'action d'un autre stress, après irradiation, diminue le degré de restauration et accroît l'effet des rayonnements.

B - CONCLUSIONS

On peut tirer de cet exposé les conclusions suivantes :

Il y a une étroite interaction entre l'activité métabolique et l'effet propre des radiations. Le cytochrome C semble jouer un rôle important par sa sensibilité aux radiations.

La radiosensibilité observée est la résultante de la radiosensibilité vraie et de la restauration. Les variations de cette sensibilité dépendent essentiellement des facultés de restauration.

La restauration n'est pas un retour à l'état initial, mais une tendance à atteindre l'état où se trouverait l'organisme s'il n'avait pas été irradié.

Pour étudier l'action des rayons X, on peut agir soit sur l'activité métabolique, soit sur les facultés de restauration.

L'embryon paraît constituer un excellent matériel d'étude :

- l'activité mitotique varie beaucoup au cours de la vie embryonnaire,

- l'allongement du temps de développement embryonnaire est proportionnel à la radiosensibilité vraie,

- les facultés de restauration sont très importantes, il est possible de les réduire en faisant agir un stress.

CHAPITRE II : PHYSIOLOGIE DE L'OEUF DE VER A SOIE

J'ai tenté de mettre en évidence dans le chapitre précédent, la très grande influence des modifications du métabolisme sur les variations de la radiosensibilité. Il est un matériel, déjà utilisé pour des études de radiobiologie, dont la physiologie est bien connue et qui présente des variations considérables de métabolisme, l'oeuf de Ver à soie. La présence d'une diapause, et la possibilité de laisser les oeufs à basse température durant des temps extrêmement variables, augmentent encore les possibilités expérimentales. En outre, ce matériel est facile à conserver, et peut être obtenu en importantes quantités.

Pour ces différentes raisons, j'ai choisi l'oeuf de Bombyx mori pour l'étude des effets des radiations ionisantes.

A - DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE (28, 29)

L'accouplement a lieu dès que les papillons sortent des cocons, généralement en juin ou juillet. La femelle commence à pondre aussitôt après et, au bout de deux ou trois jours, la ponte comprend 400 à 500 oeufs d'un poids moyen de 0,7 milligramme.

Dès sa formation, par fusion des pronuclei, le noyau de l'oeuf se divise activement. Les noyaux fils migrent vers la périphérie pour constituer le blastoderme, à l'exception de certains d'entre eux qui donneront les noyaux des cellules vitellines. La plupart des cellules blastodermiques migrent vers la région ventrale pour y former la bandelette germinative. Les autres donnent naissance aux enveloppes protectrices, la séreuse et l'amnios.

Pour les races monovoltines (c'est-à-dire présentant une seule génération annuelle) la diapause intervient à ce stade. Pratiquement, ses effets commencent à se faire sentir dès le troisième jour, et à partir du

cinquième jour elle est définitivement installée.

Extérieurement, l'oeuf, d'abord jaune pâle, a foncé, est devenu orangé, puis rouge vineux, pour atteindre avec le gris lilas sa couleur définitive.

Après un séjour suffisant à basse température, la morphogénèse reprend lors de la mise en incubation (dans le cas d'oeufs sans diapause, on n'observe aucun arrêt). Les cellules de la partie médiane de la bandelette s'enfoncent et constituent le mésoderme. Deux invaginations qui s'ébauchent aux deux extrémités, donneront le stomodeum et le proctodeum ; entre les deux va se trouver l'endoderme. L'ectoderme s'étend alors de part et d'autre de la bandelette, ses bords se rejoignent le long de la ligne dorsale, laissant cependant subsister un large sinus qui permet la communication avec le vitellus. Parallèlement, on assiste à la métamérisation, puis à l'apparition des divers appendices.

Lorsque le vitellus est en partie résorbé, l'embryon se raccourcit puis se retourne au cours de la blastocinèse, la face dorsale jusque là interne devenant externe. Cette étape est capitale dans la vie de l'embryon. Elle s'accompagne de transformations importantes de l'appareil digestif : l'intestin moyen qui communiquait avec le vitellus par le sinus dorsal se ferme et se raccorde aux intestins antérieur et postérieur.

Dès lors, l'embryon va se nourrir par la bouche. Il ingère d'abord le vitellus restant, s'allongeant progressivement pour prendre une forme en U ; puis il s'attaque aux sereuses (ce qui se traduit extérieurement par le blanchiment précédant de deux à trois jours l'éclosion), pendant que l'extrémité caudale se replie à l'intérieur de la cavité, et que la pigmentation, apparue au niveau de la tête, s'étend au corps entier.

Enfin, la petite chenille ronge la coque au niveau du micropyle et sort la tête la première. L'éclosion, étroitement liée au rythme nycthéral, a lieu peu après le lever du jour dans les conditions normales.

B - LA DIAPAUSE

La diapause de Bombyx mori est une diapause embryonnaire vraie : elle s'installe alors que les conditions extérieures sont tout à fait favo-

rables et ne peut être éliminée que par un traitement approprié, en l'occurrence un séjour prolongé au froid.

1) Déterminisme de la diapause (28, 30, 31)

Il est double, à la fois interne et externe. Le déterminisme interne est de nature génétique. Il existe des races à diapause obligatoire (monovoltines strictes), d'autres ne présentant jamais de diapause (polyvoltines strictes), et entre les deux un certain nombre de races soumises ou non à une diapause suivant les conditions externes. La diapause est alors liée aux conditions subies par la mère au début de son embryogénèse. Chez les bivoltins (deux générations annuelles) par exemple, on observe les faits suivants :

Si la température est élevée (25°C), la femelle pond des oeufs à diapause, si elle est basse (18°C), les oeufs seront sans diapause. Pour des températures moyennes (20 à 22°C), la photopériode joue le rôle déterminant : les oeufs présentent une diapause si elle est longue (16 h.), ils n'en ont point si elle est courte (12 h.).

Dans les races monovoltines, ces conditions jouent sur l'intensité de diapause.

Les facteurs externes agissent sur le cerveau embryonnaire, induisant la formation d'une plus ou moins grande quantité de cellules neurosécrétrices et déterminant la proportion des deux types A et B de ces cellules. Le cerveau contrôle à son tour le ganglion sous-oesophagien qui émet le facteur de diapause.

2) Physiologie de la diapause (30, 32, 33, 34)

C'est là un domaine encore mal connu malgré les renseignements fournis par des travaux récents. Il semble toutefois que l'on puisse dégager les points suivants.

La diapause s'accompagne d'un arrêt total de la morphogénèse ; il n'y a ni mitose ni synthèse d'acide nucléique.

Le métabolisme de la diapause est très bas, et se caractérise essentiellement par une vitesse optimale à basse température, tout au moins pendant la plus grande partie du temps (il semble qu'une certaine

estivation^x préalable soit nécessaire).

La consommation d'oxygène est très faible (I/I0° à I/50° de la normale) ; il en va de même du quotient respiratoire, ce qui pourrait indiquer une utilisation des lipides ou même leur transformation en glucides. Parallèlement, les enzymes d'oxydoréduction ont une activité très réduite. La succinoxydase est inactive, les cytochromes B et C sont indétectables, les cytochromes A et A₃ peu abondants, et la cytochrome oxydase peu active. Le cytochrome B₅ est plus abondant, il ne semble cependant pas jouer le rôle d'enzyme terminale qu'on lui avait prêté tout d'abord. Cette faible activité respiratoire est par ailleurs insensible aux inhibiteurs classiques que sont l'acide cyanhydrique et l'oxyde de carbone.

Le début de la diapause est marqué par la transformation progressive du glycogène en glycérol et sorbitol. CHINO (35, 36) a mis en évidence les enzymes correspondantes, toutefois il a constaté que celles-ci existaient aussi bien chez les oeufs sans diapause. Il pense que l'état de diapause serait caractérisé par un blocage des systèmes transporteurs d'électrons (on peut rapprocher ceci du niveau très bas des cytochromes) entraînant l'accumulation de DPNH et TPNH et, partant, la formation du glycérol. La fin de la diapause se caractérise par une synthèse du glycogène à partir de ces deux produits de dégradation.

GILMOUR (37) croit que la majeure partie du glycérol provient d'une glycolyse anaérobie par l'intermédiaire de l' α -glycérophosphate. Les travaux de WILLIAMS et HARVEY (38) sur Cecropia confirment l'existence de mécanismes anaérobies pendant la diapause (imaginale chez cet insecte). Selon ces auteurs, l'insensibilité au CNH serait due à l'existence de ces mécanismes.

La reprise de l'activité morphogénétique est liée au retour à des mécanismes aérobie. Chez Cecropia notamment on a montré qu'elle était précédée d'une synthèse très rapide de cytochrome C. WILLIAMS - cité par GILMOUR (37) - pense que la première fonction de l'hormone de croissance est d'induire la synthèse de cytochrome C. Cependant, d'aucuns pensent que le retour à un métabolisme normal est conditionné par la reprise d'activité du système succinique.

^x On appelle estivation le séjour à une température de 20 à 25°C précédant le séjour à basse température ; l'hivernation désigne le séjour au froid.

Les relations entre la diapause et l'activité des enzymes respiratoires ne sont pas encore très claires, leur existence n'en est pas moins indéniable. En particulier, quelle que soit la transformation qui détermine la fin de la diapause, la synthèse du cytochrome C (ou peut être sa réactivation) est indispensable à la reprise de la morphogénèse.

3) Elimination de la diapause

On sait empêcher l'installation de la diapause - en traitant les oeufs avec de l'acide chlorhydrique concentré, au stade rouge vineux - par contre, on ne sait pas l'éliminer rapidement une fois qu'elle est installée.

Le seul traitement est un séjour prolongé au froid. Pour les races japonaises, un séjour de deux mois à 7°C est suffisant. Les races françaises ont une diapause beaucoup plus intense et ce traitement ne suffit sans doute pas. Les travaux de TUBELLS (39) indiquent qu'une certaine estivation préalable est indispensable. Lorsqu'elle est insuffisante, la durée d'hivernation nécessaire est accrue et le taux d'éclosion reste toujours plus faible. J'ai montré par ailleurs (40), sur des oeufs ayant subi six mois d'estivation, que, si le taux d'éclosion atteignait son optimum après deux mois de froid, il en fallait quatre pour que la vitesse d'éclosion atteigne le sien.

Il est très important de bien se rendre compte que la diapause s'élimine progressivement à basse température. La fin de la diapause n'est nullement liée à la mise en incubation et peut être terminée bien avant. Dans ce cas, le développement n'est stoppé par le froid, mais on n'est plus en présence d'un métabolisme de diapause, notamment en ce qui concerne la transformation du glycogène en glycérol et sorbitol, et les mécanismes respiratoires. Si ce maintien à basse température se poursuit, on assiste à un vieillissement qui se traduit par une baisse du taux et de la vitesse d'éclosion.

Il est donc indispensable pour comprendre l'action du froid sur les oeufs de Ver à soie, de voir que ce séjour à basse température peut couvrir deux phénomènes très distincts. Au début, le froid contribue à l'élimination de la diapause, et a de ce fait une action favorable. Puis,

une fois la diapause éliminée, le froid empêche l'évolution normale de l'oeuf, jouant ainsi un rôle très défavorable et provoquant le vieillissement de l'embryon.

C - CONCLUSION

J'ai annoncé que je choisisais l'oeuf de Bombyx mori en raison de ses grandes variations de métabolisme. Je vais maintenant faire le point sur ces variations en distinguant les différentes phases, qui sont au nombre de quatre.

Début du développement embryonnaire, depuis la ponte jusqu'à l'installation de la diapause. Cette période est marquée par une très grande activité métabolique, qui est rapidement arrêtée pour laisser place à la diapause.

Diapause. Cette période, nous l'avons vu, se traduit par une baisse très grande du métabolisme, avec arrêt total de la morphogénèse. La caractéristique essentielle est le passage à une phase anaérobie, avec inversion de l'optimum de température. La diapause s'élimine progressivement au froid, et il y a un retour graduel aux mécanismes normaux.

Vieillissement au froid. La diapause est totalement éliminée, l'oeuf se trouve en phase aérobie avec optimum normal de température. La morphogénèse est pratiquement bloquée par le froid, il n'est cependant pas impossible que certaines synthèses aient lieu, mais à une vitesse très lente. Ce séjour à basse température entraîne une perte de vigueur progressive des embryons, et au bout d'un certain temps le taux d'éclosion devient nul.

Fin du développement embryonnaire, depuis la sortie du frigidaire jusqu'à l'éclosion. A la sortie du frigidaire, l'activité morphogénétique reprend assez rapidement, il y a notamment une intense activité mitotique qui se ralentit au bout d'un jour ou deux. Il semble que dans les conditions normales, il faille un certain délai avant cette reprise d'activité. Dans la pratique, on passe par une phase de pré-incubation de deux ou trois jours pendant laquelle la température atteint progressivement 22°C. Cette reprise d'activité est d'autant plus rapide que la diapause est mieux éliminée.

Durant cette dernière période, l'activité va croître très rapidement tout d'abord, puis de façon beaucoup plus lente ensuite. Il y a de plus trois crises importantes qui sont : la blastocinèse, le blanchiment, l'éclosion.

C H A P I T R E I I I : E X A M E N C R I T I Q U E D E S E X P E R I E N C E S

EFFECTUEES SUR LES OEUFs DE BOMBYX MORI

Bien que les oeufs de Bombyx mori semblent constituer un matériel commode pour l'étude des effets des rayonnements ionisants sur l'embryogénèse des insectes, ils n'ont guère été utilisés à cette fin. Les seuls travaux réalisés dans ce domaine l'ont été par LAMARQUE en collaboration avec GROS (41), ou GARY-BOBO (42), et plus récemment par PAULOV (43).

Ces auteurs ont cherché surtout à étudier l'influence du froid sur la radiosensibilité, mais ils ont totalement négligé la diapause, et de ce fait, ainsi que nous allons le voir, leurs interprétations sont fort contestables.

A - EXPERIENCES DE LAMARQUE ET SES COLLABORATEURS

I) LAMARQUE et GROS

Ils ont constaté deux effets principaux des rayons X qui sont, d'une part, un allongement du temps de développement, d'autre part, une augmentation de la mortalité (qui se définit comme la non éclosion des oeufs). C'est ce dernier critère qu'ils ont choisi.

Leurs principales observations ont été effectuées sur des oeufs irradiés après trois mois de froid, dès la sortie du frigidaire :

- la mortalité n'est pas modifiée par des doses inférieures ou égales à 500 roentgens, elle est totale à 5 000 roentgens ;
- le fractionnement des doses en diminue l'effet ;
- une dose délivrée en une seule fois à la sortie du frigidaire a le même effet que deux demi-doses délivrées, l'une juste avant la

mise au frigidaire, l'autre juste à la sortie.

2) LAMARQUE et GARY-BOBO

Leurs expériences avaient pour objet l'étude de la restauration sur les oeufs de Bombyx mori. Le critère choisi est toujours la mortalité. Les oeufs sont conservés à 0°C (température qui me semble un peu trop basse), et irradiés à la sortie du frigidaire.

Les oeufs remis à 0°C après irradiation présentent le même pourcentage de mortalité que ceux qui sont mis en incubation aussitôt. Le froid empêcherait donc la restauration.

La DL 50 pour une dose unique, délivrée à la sortie du frigidaire, est de I 200 roentgens. Pour deux demi-doses, séparées par un intervalle de temps de six heures, la DL 50 est de I 850 roentgens. En six heures il y a donc eu une restauration importante. Si les oeufs sont placés au froid entre deux expositions fractionnées, il y a quand même une certaine restauration, ce qui est en contradiction formelle avec les résultats de l'expérience précédente.

3) Discussion

Il est difficile de discuter ces expériences, en raison de l'imprécision avec laquelle elles sont rapportées. Les conditions expérimentales sont mal définies et les résultats sont trop souvent figurés par des courbes peu représentatives. En outre, ces auteurs ne tiennent aucun compte de la diapause, non plus que des variations de sensibilité liées à la croissance de l'embryon.

De ce fait, on ne peut pratiquement rien tirer de positif de leurs expériences parfois contradictoires. Par exemple, il est peu vraisemblable que l'on puisse observer une DL 50 de I 200 roentgens, alors que la mortalité à 500 roentgens est négligeable et qu'il faut attendre 5 000 roentgens pour qu'elle soit totale.

B - EXPERIENCES DE PAULOV

Ce dernier donne plus de détails sur les conditions expérimen-

tales, et ses résultats, numériques, sont plus précis.

Il opère sur des oeufs en estivation qu'il divise en trois lots : le lot C sert de témoin, le lot A est irradié 5 à 8 heures avant la mise au frigidaire, le lot B, 5 à 8 heures après la sortie du frigidaire. Les deux lots reçoivent 100, 500, 1 000, 2 000, 4 000 et 6 000 roentgens de rayons gamma (Cobalt 60, 59 roentgens/minute). Tous les oeufs passent quatre mois à 5° C.

L'auteur mesure la vitesse d'éclosion et surtout le pourcentage de mortalité. D'après ses données, j'ai dressé le tableau ci-dessous.

doses		100	500	1 000	2 000	4 000	6 000
lot A	mortalité	8,4	8,1	9,4	17,4	83,2	99,4
	temps de développement *	2,83	2,92	3,07	3,68	5,31	-
lot B	mortalité	10,4	12,8	83,3	100	100	100
	temps de développement	2,86	3,67	5,30	-	-	-
témoins	temps de développement	2,81					
	mortalité	7,8					

* En réalité, il ne s'agit pas du temps de développement, PAULOV n'ayant compté les jours qu'à partir de la première éclosion. Ces chiffres permettent toutefois de suivre les variations du temps de développement.

Pour les deux critères, la sensibilité des oeufs du lot B est beaucoup plus grande. Il faut pratiquement attendre 2 000 roentgens pour observer une différence significative dans le lot A, alors qu'à 500 roentgens dans le lot B, la mortalité et le temps de développement sont nettement accrus. La mortalité à 2 000 roentgens, est de 17% dans le lot A alors qu'elle est de 100% dans le lot B. On peut remarquer par ailleurs que les doses de 2 000 et 4 000 roentgens du lot A ont des effets semblables à celles de 500 et 1 000 roentgens du lot B, c'est-à-dire des doses quatre fois plus faibles.

PAULOV en déduit que le froid a un effet, favorable lorsqu'il est appliqué après irradiation, et défavorable lorsqu'il se place avant. Cette conclusion, assez curieuse, va à l'encontre de ce qui est généralement

admis. En fait, il existe une autre explication beaucoup plus satisfaisante. Les oeufs irradiés avant la mise au frigidaire se trouvent en diapause, leur métabolisme est alors très bas, ils sont donc peu sensibles aux radiations. GROSCH (21) a d'ailleurs signalé une diminution de la radiosensibilité avec la diapause. Par contre, les oeufs du lot B sont irradiés après élimination de la diapause, à un moment où l'embryogénèse reprend et où l'activité métabolique est intense, ils doivent donc être très sensibles.

Ainsi les expériences de PAULOV s'interprètent de façon beaucoup plus logique lorsqu'on attribue les différences de sensibilité à la diapause et non à l'action du froid.

Ces résultats sont intéressants : ils mettent en évidence l'importance considérable de l'état physiologique de l'embryon sur la radiosensibilité. On peut sans doute expliquer ainsi certaines des contradictions relevées dans les expériences de LAMARQUE et al., les oeufs utilisés dans les diverses expériences n'ayant pas tous subi le même temps de froid. Ces observations montrent en outre que le temps de développement et la mortalité sont très sensibles aux rayonnements et peuvent de ce fait être utilisés comme critères pour l'étude des doses faibles.

C H A P I T R E IV : PLAN EXPERIMENTAL

J'ai exposé dans les chapitres précédents les raisons qui justifiaient le choix de l'oeuf de Bombyx mori comme matériel d'étude des effets des rayons X. J'ai, ce faisant, insisté sur les variations physiologiques que présente ce matériel et dégagé les phases principales de ces variations. J'avais auparavant mis en évidence l'importance de l'état physiologique pour la sensibilité aux radiations. Il s'ensuit tout naturellement un plan expérimental dont je vais donner le schéma.

A - ETUDES PRELIMINAIRES

1) Choix des critères

Ce choix revêt généralement une importance capitale pour la suite de l'expérimentation. En ce qui me concerne, il aura d'autant plus d'importance que je vise surtout l'effet de doses faibles, peu marqué. Les expériences de PAULOV montrent l'intérêt présenté par les variations de la mortalité et du temps de développement. Cependant, on peut penser à d'autres phénomènes également sensibles aux radiations.

La résistance au jeûne des larves de Ver à soie à la naissance a fait l'objet d'un travail assez complet de la part de SINGH JOLLY (44). Cette résistance dépend d'un certain nombre de facteurs du milieu, on peut donc supposer qu'elle est sensible aux rayonnements.

Plusieurs auteurs ont mis en évidence un effet lointain (ou prolongé) des radiations. Chez le Ver à soie, l'élevage des larves est bien connu, et il sera donc facile de comparer la croissance de chenilles irradiées à l'état d'embryons, à celle de chenilles normales. De même, il est facile de comparer les caractéristiques des cocons et des pontes. Je pourrai ainsi mettre en évidence d'éventuels effets prolongés.

Je retiendrai donc quatre critères de radiosensibilité qui sont:

- la durée de développement embryonnaire,
- la mortalité embryonnaire,
- la résistance au jeûne des chenilles néonates,
- le développement des larves, puis des adultes.

2) Etude des témoins

Si la physiologie de l'oeuf de Ver à soie a fait l'objet de nombreuses études, il est cependant nécessaire de préciser certains points, en particulier en ce qui concerne la forme et les caractéristiques des courbes d'éclosion, et la résistance au jeûne.

Il est tout d'abord nécessaire de définir les conditions normales de mise en incubation afin d'obtenir un standard de référence. En règle générale, on considère que des oeufs, ayant subi quatre mois d'hivernation, puis placés en incubation à 22°C avec 80% d'humidité relative et une

photopériode de quatorze heures, se trouvent dans les conditions optimales. J'étudierai les caractères de mes critères dans ce cas là, je déterminerai ensuite la manière dont ils évoluent lorsqu'on fait varier la durée d'hivernation (les conditions de l'incubation n'étant jamais modifiées).

B - IRRADIATION DANS LES CONDITIONS NORMALES

L'objet de mon travail est l'étude des variations de la radiosensibilité. De même que j'ai défini un standard pour les témoins, il me faudra définir un standard pour les irradiés, à partir duquel je pourrai observer les variations de radiosensibilité.

PAULOV irradie les oeufs, 5 à 8 heures après la sortie du frigidaire, de façon à leur permettre d'avoir retrouvé une activité normale au moment de l'exposition, je ferai de même. J'opérerai donc sur des oeufs ayant subi quatre mois d'hivernation et quelques heures d'incubation.

Il reste maintenant à déterminer les doses. LAMARQUE et al. ont trouvé un effet entre 500 et 5 000 roentgens. PAULOV, opérant dans des conditions proches de celles que je désire utiliser, a obtenu une mortalité totale à 2 000 roentgens, et un effet pratiquement négligeable à 100 roentgens. Je prendrai ces deux valeurs comme limites. J'ai réduit le nombre des doses intermédiaires, afin de ne pas trop augmenter la quantité de lots, et j'ai choisi en définitive les doses suivantes : 100, 200, 500, 1 000 et 2 000 roentgens. Chaque série expérimentale comporte bien entendu un témoin.

Ayant défini les conditions standard d'irradiation, je peux maintenant faire varier ces conditions. Deux sources de variations sont possibles, les unes liées à l'irradiation elle-même, les autres à la physiologie de l'embryon.

C - MODIFICATIONS LIEES A L'IRRADIATION

Sur le plan technique, il ne m'est guère possible de faire varier les conditions d'administration. Je me suis donc contenté de modifier le moment du développement embryonnaire où a lieu l'irradiation.

1) Début du développement embryonnaire et reprise après la diapause

Le développement embryonnaire, très actif dans les deux premiers jours qui suivent la ponte, s'arrête assez rapidement, et l'oeuf entre en diapause. Le développement reprend, dix mois plus tard, lors de la mise en incubation. Il y a donc une interruption de continuité dans le développement embryonnaire.

Il sera intéressant de faire des irradiations à des moments variés de ce développement pour comparer la radiosensibilité des divers stades, et également de faire des irradiations chroniques durant ce développement.

2) Diapause

La diapause est une phase assez stable, on peut cependant distinguer une estivation et une hibernation.

Au début de l'estivation subsistent encore quelques réactions métaboliques, notamment la transformation du glycogène en glycérol et sorbitol.

L'hibernation élimine progressivement la diapause, et vers la fin, le glycogène est resynthétisé à partir de ses constituants.

J'essaierai de voir, d'une part si il y a des différences entre estivation et hibernation, d'autre part si la sensibilité varie au début de l'estivation et à la fin de l'hibernation. Pour cela je ferai des irradiations aiguës ou chroniques à des moments divers de la diapause.

D - MODIFICATIONS DE LA PHYSIOLOGIE DE L'EMBRYON

On pourrait faire intervenir plusieurs facteurs tels que température, humidité, tension d'oxygène, ou interaction d'un stress. J'ai seulement fait varier la durée d'hibernation, ce qui est particulièrement commode et a pour effet d'entraîner un vieillissement des embryons. J'étudierai ainsi l'effet du vieillissement sur la radiosensibilité en irradiant des oeufs ayant subi des durées d'hibernation plus ou moins importantes.

Ce plan expérimental a été conçu uniquement d'après des données bibliographiques, il est vraisemblable qu'il sera modifié plus ou moins en cours de route, certaines observations s'avérant difficilement réalisables, l'idée d'expériences nouvelles pouvant se faire jour. Il donne surtout les idées directrices qui ont orienté cette étude.

DEUXIEME PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE I : MATERIELS ET TECHNIQUES

A - MATERIELS

I) Matériel biologique

Toutes mes expériences ont été effectuées sur des oeufs de Bombyx mori, de race monovoltine (type 200/300 des Etablissements ROUSTAN).

La majeure partie de ces oeufs a été obtenue à la Station Séricicole d'Alès.

Le premier lot provenait de pontes de juin 1961. Une partie a été mise au frigidaire à la mi-décembre 1961, l'autre à la mi-février 1962.

Le deuxième lot a été fourni par des pontes de juin 1962. Il a été mis en hibernation au début de janvier 1963.

En septembre 1962, j'ai élevé au laboratoire des chenilles de Ver à soie afin d'obtenir des oeufs. Ces derniers ont été pondus vers la mi-octobre. Après deux mois d'estivation à 22°C, ils ont été mis au frigidaire à la fin du mois de décembre. Ils ont manifesté un certain nombre de caractères (notamment une diapause très intense et une mortalité supérieure à la normale) qui font que la plupart des expériences effectuées avec ce lot

n'ont pas donné de résultats utilisables.

Il est bien évident que les comparaisons de radiosensibilité, en fonction des différents facteurs, ne peuvent être faites valablement qu'à l'intérieur d'un même lot. Aussi, mentionnerai-je toujours, dans la suite de cet exposé, l'origine des oeufs employés.

2) Matériel technique

Il se limite au générateur de rayons X. Il s'agit d'un appareil de thérapie médicale, de modèle ancien. Le tube de Coolidge a une anode de tungstène. Le courant est redressé par deux valves fonctionnant sous une tension de 7,5 volts. Un stabilisateur assure la régularité de l'intensité de chauffage du filament.

La dosimétrie est faite au moyen d'un dosimètre intégrateur Massiot de 550 roentgens.

Par suite de son ancienneté et de son état d'usure, cet appareil est très imprécis.

Le faisceau de rayons est très hétérogène dans l'espace, il est vraisemblable qu'il en va de même du spectre d'énergie dans le temps.

L'incertitude au sujet de la dose délivrée est assez grande, ce d'autant plus que le dosimètre Massiot n'est ni très sensible, ni très constant. Une autre source d'erreurs est liée à l'obligation de couper la haute tension chaque fois que l'on veut effectuer une irradiation : comme il n'y a pas d'obturateur télécommandé, il est nécessaire de faire chauffer l'appareil, puis de l'arrêter pour mettre en place ce que l'on désire irradier. Il s'écoule alors un certain laps de temps avant que l'équilibre soit atteint ; l'erreur résultante est d'autant plus importante, en valeur relative, que la dose utilisée est plus faible.

Pratiquement, dans les conditions où je travaille, on ne peut guère employer de doses inférieures à 500 roentgens. Ce manque de précision m'a amené à modifier quelque peu mes projets expérimentaux : j'ai dû en particulier renoncer à l'utilisation de doses inférieures à 500 roentgens, et de ce fait aux irradiations chroniques.

B - TECHNIQUES

I) Techniques d'irradiation

L' irradiation a toujours lieu dans les mêmes conditions. Les oeufs sont placés dans une boîte en matière plastique, sans couvercle, de 25 millimètres de diamètre, située au centre du faisceau, à 20 centimètres de l'anticathode. Dans ces conditions, la partie du faisceau interceptée par la boîte est assez homogène.

La tension appliquée est 80 kilovolts, l'intensité de chauffage, 4 milliampères ; j'utilise un filtre d'aluminium de 0,5 millimètre d'épaisseur. Les oeufs reçoivent alors 43 roentgens par minute (dans les premières expériences, l'intensité était de 39 roentgens par minute, après un recentrage du faisceau, on a obtenu une intensité un peu plus forte).

L' irradiation a lieu à la température ambiante, le plus souvent comprise entre 23 et 26°C. Cependant dans certaines expériences réalisées au cours de l'été, la température a atteint et même dépassé 30°C. Ces variations ne semblent pas avoir provoqué des différences importantes de sensibilité.

Les oeufs irradiés en cours d'hivernation sont placés à la température ambiante deux ou trois minutes avant le début de l'exposition et remis au froid deux ou trois minutes après la fin de celle-ci.

Afin de diminuer les risques d'erreurs dus au dosimètre, j'ai préalablement mesuré avec un chronomètre les temps correspondant aux diverses doses utilisées. Cette mesure répétée plusieurs fois m'a permis de déterminer un temps moyen pour chaque dose (bien entendu ces temps ont été mesurés à nouveau, après le recentrage du faisceau). Pour mes expériences, j'ai tenu compte uniquement des indications du chronomètre, le dosimètre servant de contrôle.

Pour les différentes raisons que j'ai énumérées au paragraphe précédent, il est pratiquement impossible d'évaluer la précision obtenue. Les erreurs dues à la dosimétrie paraissent être de 5% : les mesures effectuées pour l'obtention des temps moyens, et les contrôles ultérieurs, n'ayant jamais fait apparaître de différences supérieures à ce seuil. Je pense que pour des doses supérieures ou égales à 500 roentgens on peut estimer que l'erreur est inférieure à 10%.

Dans la suite de cet exposé, aucune confusion n'étant à craindre et afin d'alléger le texte, l'unité de mesure roentgen sera désignée par la lettre r.

2) Etude des effets de l'irradiation

a) Critères utilisés

J'ai choisi quatre critères (cf. page 28) qui sont :

- le temps de développement embryonnaire,
- la mortalité embryonnaire,
- la résistance au jeûne des larves néonates,
- le développement des larves et des adultes.

Les deux premiers seront étudiés en détail dans un autre paragraphe, je ne considérerai ici que les deux derniers.

La mesure de la résistance au jeûne des chenilles néonates pose des problèmes assez complexes.

Tout d'abord, il est assez difficile de déterminer le moment exact où la chenille meurt, et de ce fait les comptages sont longs, ce qui réduit le nombre d'expériences pouvant être effectuées simultanément.

Par ailleurs, les premières observations que j'ai effectuées ont fait apparaître une certaine liaison entre la résistance au jeûne et le temps de développement embryonnaire : les chenilles nées les premières résistent plus longtemps que les dernières nées. Tout se passe comme si le phénomène important était, non pas le temps de survie de la chenille, mais le temps qui s'écoule depuis le début de la mise en incubation jusqu'à la mort de la larve. Comme les irradiations provoquent un allongement du temps de développement, il serait très difficile d'interpréter des modifications éventuelles de la résistance au jeûne.

Dernier point enfin, je n'ai pu obtenir de différences marquées entre la survie des chenilles témoins et la survie des chenilles irradiées à l'état d'embryons, aux doses qui m'intéressent.

L'élevage des chenilles ne m'a pas donné plus de satisfaction. Je n'ai pas pu mettre en évidence, même après action de doses entraînant une mortalité de 50%, une différence dans l'évolution des larves issues

d'oeufs témoins ou irradiés. Ni les cocons, ni les papillons, ni leurs pontes ne sont affectés. Il est par ailleurs trop tôt pour conclure à l'existence, ou à l'absence, d'effets mesurables au niveau de la première génération. Le fait qu'on ne peut obtenir qu'une seule génération par an, rend en effet très long ce genre d'étude.

Des quatre critères que j'avais primitivement choisis, deux seulement paraissent utilisables et je vais les étudier dans le paragraphe suivant.

b) Mesure du temps de développement embryonnaire et de la mortalité

Le protocole expérimental est toujours le même.

Les oeufs sont d'abord triés afin d'éliminer ceux qui sont manifestement non viables. Cette opération introduit une certaine variabilité, qui reste cependant bien inférieure à celle que l'on observerait naturellement.

Qu'il s'agisse d'oeufs témoins ou irradiés, ils sont tous utilisés par lots de 300 (parfois 450 ou même 600 lorsque le taux d'éclosion devient trop faible). Ensuite (après l'irradiation, s'il s'agit d'oeufs irradiés), chaque lot est divisé en trois parties égales, afin de constituer des répétitions concernant le développement embryonnaire. Pour chaque série irradiée, il y a au moins un lot témoin qui est soumis aux mêmes conditions.

Les oeufs sont placés dans des tubes en verre (longueur 10 centimètres, diamètre 1 centimètre) fermés par un tissu léger (par exemple morceau de bas nylon) fixé au moyen d'un bracelet de caoutchouc. Les lots sont repérés par une petite étiquette glissée à l'intérieur du tube.

L'incubation a lieu dans une étuve vitrée où règnent les conditions standard préalablement définies : 22°C ($\pm 0,2^{\circ}\text{C}$), humidité relative 80% ($\pm 5\%$), photopériode artificielle de 14 heures (7 h - 21 h). La mise en incubation a toujours lieu le matin, entre 8 et 9 heures.

Des expériences préliminaires ont été faites en constituant des répétitions soit avant, soit après l'irradiation. Les résultats sont les mêmes dans les deux cas, la précision étant toutefois supérieure avec la dernière méthode ; c'est pourquoi je l'ai choisie.

- Temps de développement embryonnaire

Le temps de développement embryonnaire est celui qui s'écoule entre le début de la mise en incubation et le moment de l'éclosion. Chez le Ver à soie, les éclosions sont liées au rythme nycthéméral et ont lieu peu après le lever du jour, qu'il s'agisse d'une photopériode naturelle ou artificielle. Il est donc logique de faire un contrôle journalier.

Lorsque débutent les éclosions, les chenilles néonates sont enlevées chaque jour des tubes correspondants, et comptées. Le temps moyen de développement de chaque lot a été choisi comme rendant le mieux compte des variations, liées aux conditions physiologiques ou à l'irradiation. Il est obtenu en faisant la moyenne pondérée des temps de développement des larves qui composent le lot considéré.

Si on désigne par x_i le nombre de jours d'incubation avant l'éclosion, par n_i le nombre de larves écloses le jour considéré, le temps moyen de développement est donné par la formule

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i \cdot n_i}{N} \quad \text{où} \quad N = \sum n_i$$

N est le nombre total de larves écloses, on aurait pu prendre le nombre total d'oeufs du lot. Cette méthode a l'inconvénient de lier le temps de développement aux variations de la mortalité, et m'a paru de ce fait moins logique.

Dans les conditions normales, c'est-à-dire lorsque la diapause est totalement éliminée, les naissances sont très groupées : 80% des larves naissent en trois jours, et l'ensemble des éclosions s'étend sur une semaine environ. Par contre, lorsque la diapause n'est pas totalement éliminée, l'étalement des naissances est plus important, il peut atteindre trente jours (et même plusieurs mois). Dans ce cas, l'expérimentateur est astreint à compter tous les jours pendant un mois les larves écloses. Il peut arriver que ce travail ne puisse être effectué complètement, et dans l'exposé de mes travaux j'indiquerai parfois simplement la mortalité, le temps de développement n'ayant pu être calculé.

Les embryons sont considérés comme morts s' ils n'ont pas éclos au bout d'un certain temps. La mortalité sera donc définie par le pourcentage d'oeufs non éclos.

$$P = \frac{n}{N} \times 100$$

où n ($n = N' - N$) désigne le nombre d'oeufs non éclos
 N' le nombre total (éclos + non éclos) d'oeufs contenus dans le lot.

Cette définition est quelque peu ambiguë car il n' est pas possible de fixer le temps au bout duquel on peut considérer les oeufs non éclos comme réellement morts. Dans les conditions normales, si l'on attend une semaine après la dernière éclosion constatée dans l'ensemble des lots, on mesure réellement la mortalité. Par contre, si la diapause est imparfaitement éliminée, les éclosions peuvent être très échelonnées et pour être certain que toutes les larves non écloses sont bien mortes il faudra attendre assez longtemps. Il y a là une possibilité d'erreur. Toutefois, je ne pense pas que les résultats rapportés dans cet exposé soient entachés d'erreurs de ce type.

La mortalité ainsi définie revêt un caractère assez particulier. Le plus souvent, après action d'une irradiation létale, les individus meurent de façon échelonnée, et l'on tient compte à la fois du pourcentage de mortalité et du temps moyen de survie, ce dernier ayant souvent une valeur plus significative. Dans le cas qui m'intéresse, il n'en va pas de même, la mortalité est un phénomène de tout ou rien, un oeuf meurt ou éclôt. Pour chaque lot, j'obtiens donc, non pas une valeur moyenne comme pour le temps de développement, mais une donnée brute représentée par un pourcentage qui varie de façon discontinue.

Il faut en tenir compte lorsque l'on compare les variations du temps de développement à celles de la mortalité. Dans le premier cas, ce temps varie effectivement pour chaque individu pris isolément, dans le deuxième cas, ce qui varie est la probabilité pour un oeuf d'éclore ou non.

c) Précision des mesures

J'ai signalé au paragraphe précédent, une possibilité d'erreur liée à la définition de la mortalité : une telle erreur retentirait également sur le temps de développement. Cependant, les erreurs les plus à craindre sont les erreurs matérielles (repérage des tubes et comptage des oeufs ou chenilles).

Toutefois ces erreurs restent faibles devant celles provenant de l'imprécision de la technique d'irradiation.

Il ne faut d'ailleurs pas perdre de vue que chaque lot comporte trois répétitions et que la plus ou moins grande concordance de celles-ci donne une bonne idée de la précision obtenue. Les résultats rapportés dans ce travail montrent que cette précision est bien meilleure en ce qui concerne le temps de développement qu'en ce qui concerne la mortalité. Cette différence est due en grande partie au fait que le temps de développement est la moyenne d'une série de mesures, alors que la mortalité est simplement une donnée brute.

3) Techniques statistiques

Mes schémas ont été conçus pour permettre des analyses de variance et mes résultats ont été interprétés à l'aide de cette méthode. Lorsque l'analyse fait apparaître des différences significatives, les moyennes concernant chaque dose sont comparées grâce au test de la plus petite différence significative (p.p.d.s.) :

$$t = S_e \frac{\sqrt{2}}{\sqrt{n}} \cdot t_{\alpha} \quad \text{VESSEREAU, page 188 (45)}$$

où S_e est l'écart-type de l'erreur résiduelle

n le nombre de répétitions

t_{α} la valeur indiquée par les tables de STUDENT-FISHER, pour le nombre de degrés de liberté correspondant à S_e , et au seuil de signification choisi.

Cette formule est valable lorsque le nombre de répétitions est le

même pour tous les traitements.

Le seuil de signification choisi est celui de 5%. Dans l'exposé des résultats, lorsqu'il n'y aura pas d'ambiguïté à craindre, deux traitements seront dits différents s'ils entraînent des différences significatives au seuil de 5%.

a) Temps de développement

L'analyse de variance ne peut s'appliquer que lorsque certaines conditions (normalité de l'erreur et invariance de la variance) sont remplies. Nous verrons au chapitre suivant que les éclosions ne suivent pas tout à fait une loi normale, cependant comme je compare les temps moyens je suppose que ceux-ci se distribuent de façon normale. La variance varie avec la dose, dans des limites assez étroites toutefois. Je peux donc appliquer l'analyse de variance à l'étude des temps de développement.

Lorsque je compare des lots ayant subi des durées d'hivernation très différentes, les variances sont modifiées de façon trop importante par le traitement (en l'occurrence la durée d'hivernation) pour que je puisse employer l'analyse de variance. Dans ce cas, j'utilise un test basé sur la comparaison des intervalles de confiance de la moyenne. J'étudie les variations du temps de développement non seulement en fonction de la dose, mais aussi en fonction de certaines modifications, notamment celles de l'état physiologique de l'oeuf. Or, le temps de développement des témoins varie de façon importante suivant le degré d'élimination de la diapause. Pour comparer les variations de radiosensibilité, il est intéressant d'employer une valeur ne dépendant que de la dose administrée. J'ai choisi à cet effet l'allongement relatif du temps de développement.

$$\frac{t_i - t}{t} = \frac{\Delta t}{t}$$

où t_i est le temps moyen de développement des oeufs irradiés,

t le temps moyen de développement des oeufs témoins.

Pour plus de commodité, j'utiliserai la valeur $\frac{\Delta t}{t} \times 100$.

En écrivant que l'allongement relatif ne dépend que de la dose, je fais l'hypothèse que, pour une dose donnée, l'allongement du temps de développement est proportionnel à la durée de développement. Cette hypothèse me paraît assez logique.

b) Mortalité

La mortalité, exprimée par un pourcentage, est de ce fait distribuée suivant une loi binomiale, et l'analyse de variance ne peut théoriquement lui être appliquée. Plusieurs auteurs ont tenté de trouver des transformations stabilisant la variance (46).

FISHER et YATES (47), ainsi que LISON (48) recommandent pour les distributions binomiales l'utilisation de la transformation

$$y = \text{Arc sin } \sqrt{p}$$

où p désigne le pourcentage de mortalité,

qui rend la variance proportionnelle à $\frac{1}{N}$.

Cette formule est valable seulement dans le cas où la taille de tous les échantillons est du même ordre.

J'ai fait un bon nombre d'analyses en utilisant, d'une part les données brutes, d'autre part les données transformées suivant cette méthode. Je n'ai jamais observé de variations notables entre les résultats des deux méthodes. Il suffit de se montrer prudent, lorsque les différences entre traitements sont voisines du seuil de signification, pour pouvoir se dispenser de transformer les données.

Cependant dans l'étude des témoins, où je compare des lots de tailles diverses, ayant des pourcentages de mortalité très variables, je préfère utiliser la méthode empirique de LISON (48, pages 324-325) basée sur l'estimation des intervalles de confiance et qui ne fait appel à aucune hypothèse particulière.

Pour étudier les variations de radiosensibilité, il est commode de se servir de la mortalité corrigée. J'emploie alors la formule de FINNEY (cité par EMMENS - 49).

$$p = \frac{p_i - p_t}{100 - p_t} \times 100$$

où p représente la mortalité corrigée,
 p_i la mortalité des oeufs irradiés,
 p_t la mortalité des oeufs témoins.

Cette formule est applicable tant que la mortalité des témoins n'excède pas 50%. Elle fait varier la mortalité de 0 à 100% et de ce fait constitue, à mon avis, une meilleure estimation que la formule, classique en toxicologie, d'ABOTT.

C H A P I T R E II : ETUDE DES TEMOINS

L'oeuf de Ver à soie a fait l'objet de nombreux travaux, cependant certains points de sa physiologie sont encore peu connus. Le phénomène de la diapause est loin d'être complètement élucidé, et le vieillissement au froid des oeufs n'a guère été étudié. Par ailleurs, je n'ai trouvé aucune donnée concernant les caractéristiques des courbes d'éclosion.

Dans un premier paragraphe, je préciserai les caractéristiques de ces courbes dans les conditions normales. J'étudierai ensuite les variations de ces paramètres en fonction de la durée d'hivernation. Parallèlement, j'observerai les variations de la mortalité.

A - CONDITIONS NORMALES

Le cycle d'une génération de Bombyx mori, depuis la mise en incubation de l'oeuf, jusqu'à la ponte suivante, dure environ deux mois. Pour des races monovoltines, la diapause s'étend donc naturellement sur dix mois. Pratiquement, cela correspond à cinq ou six mois d'estivation, suivis de quatre à cinq mois d'hivernation. Je me suis placé dans ces conditions qui doivent être les conditions optimales.

I) Caractéristiques des courbes d'éclosion

De telles courbes sont obtenues en portant, en abscisses, le nombre de jours d'incubation, et en ordonnées, soit le pourcentage direct, soit le pourcentage cumulé, correspondant.

La figure I représente ces deux types de courbes pour des oeufs ayant subi six mois d'estivation et quatre mois d'hivernation.

La courbe Ia, asymétrique, ne paraît pas correspondre à une distribution normale. Ses caractéristiques sont les suivantes (les caractéristiques n'ont pas été calculées d'après les pourcentages, mais d'après les données brutes) :

$$\begin{aligned} N &= 1058 \text{ oeufs} \\ \text{moyenne} &= 14,14 \text{ jours} \\ \text{variance} &= 1,49 \\ \text{coefficients de} &\begin{cases} b_1 = 1,68 \\ b_2 = 5,89 \end{cases} \\ \text{PEARSON} & \end{aligned}$$

Les limites des coefficients de PEARSON, au seuil de 5%, pour 1000 éclosions distribuées suivant la loi normale, sont :

$$b_1 < 0,02 \quad \text{et} \quad 2,78 < b_2 < 3,26$$

La courbe d'éclosion considérée est donc très différente d'une courbe normale. J'ai tenté de la transformer en utilisant, non plus les données brutes, mais les logarithmes de ces données. La figure IIa représente la courbe ainsi obtenue. Ses caractéristiques sont :

$$\begin{aligned} \text{moyenne} &= 14,98 \text{ jours} \\ \text{variance} &= 4,39 \\ \text{coefficients de} &\begin{cases} b_1 = 0,33 \\ b_2 = 2,68 \end{cases} \\ \text{PEARSON} & \end{aligned}$$

Le coefficient b_1 reste encore assez éloigné du seuil normal, mais est notablement réduit, quant au coefficient b_2 , il est presque dans

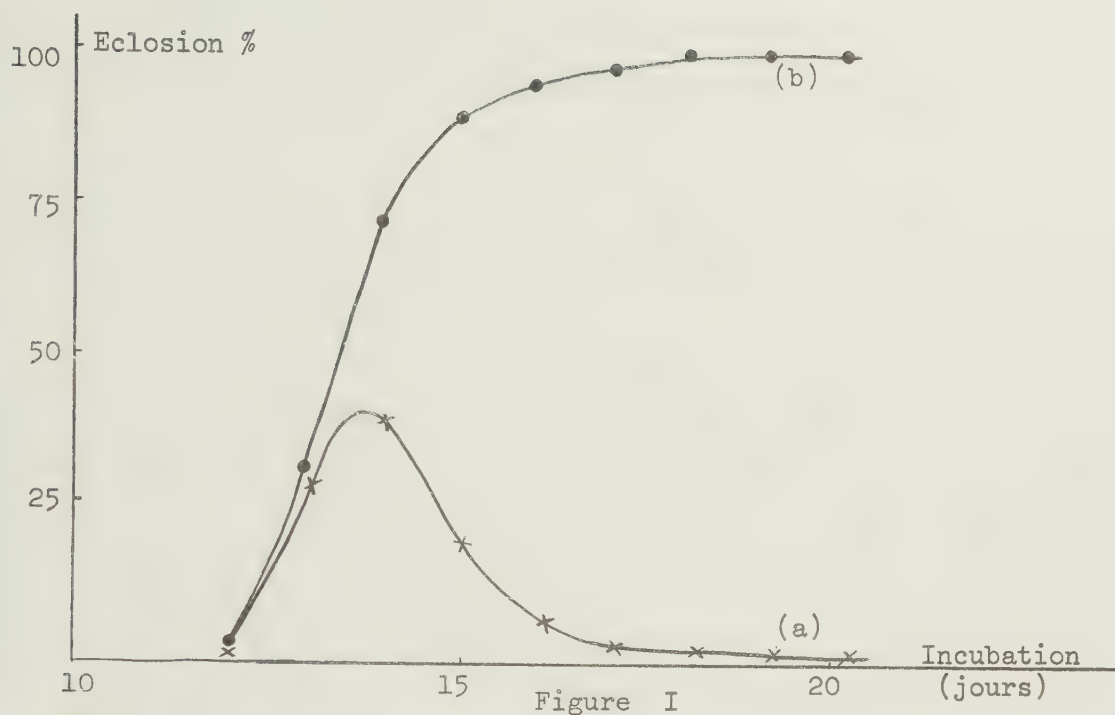


Figure I

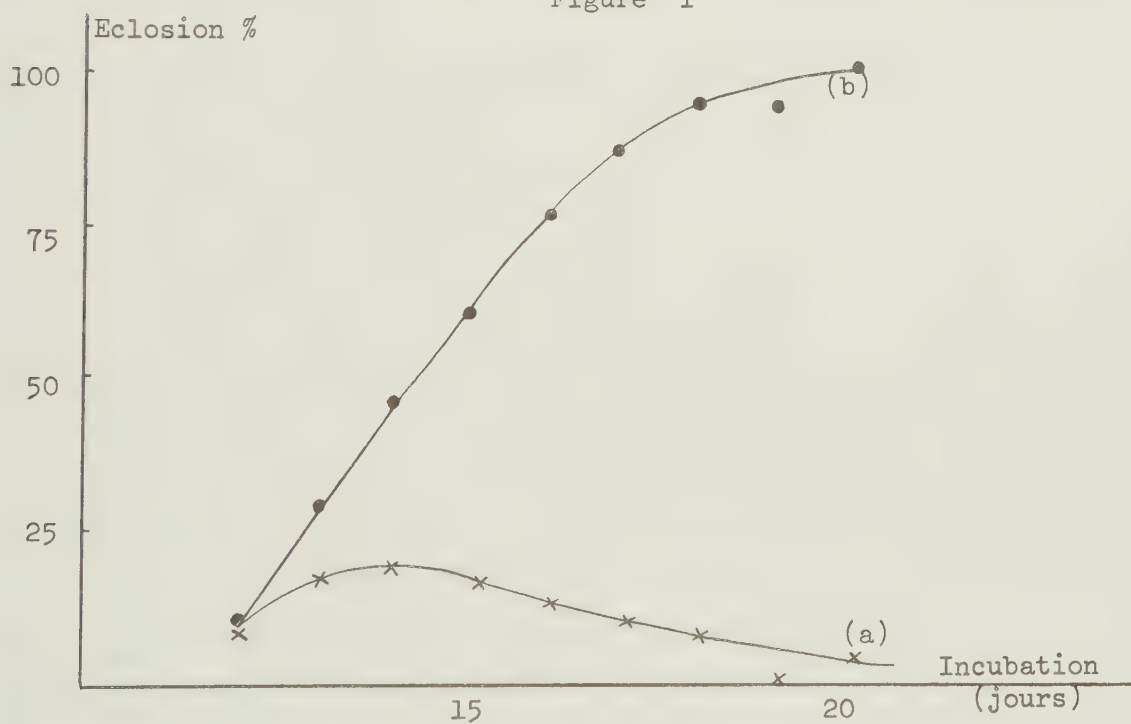


Figure II

La figure I représente les courbes d'éclosion, directe (a) et cumulée (b), obtenues avec les pourcentages bruts, pour des oeufs ayant subi six mois d'estivation et quatre mois d'hivernation.

Dans la figure II, on a pris non plus les données brutes mais leurs logarithmes.

les limites. Par contre, la variance a augmenté. La transformation logarithmique a aplati la courbe et a fortement atténué sa dissymétrie. Cette dernière modification signifie qu'un certain nombre des facteurs agissant sur l'éclosion ont un effet multiplicatif.

On connaît l'importance considérable du rythme nycthéméral chez les êtres vivants. Depuis quelques années, on a constaté qu'un rythme interne persistait plusieurs jours, parfois même plusieurs mois, lorsque l'organisme était placé dans des conditions constantes d'éclairement (50). Ce rythme interne, appelé rythme circadien, affecte toutes les activités, notamment l'activité physiologique. Il semble d'origine génétique, et peut être stimulé par des durées d'éclairement extrêmement brèves. Lorsque l'organisme est soumis à une photopériode de vingt-quatre heures, le rythme circadien entre en concordance avec la photopériode de façon très rigoureuse. Par exemple, chez Periplaneta (51), les cellules neurosécrétrices du ganglion sous-oesophagien libèrent leur sécrétion toutes les vingt-quatre heures.

Le Ver à soie est particulièrement sensible à ce rythme durant toutes les phases de son développement. En ce qui concerne l'oeuf, l'éclosion a lieu peu après le début de la photopériode, et s'étale sur moins de deux heures. Il est logique de supposer que d'autres phases du développement embryonnaire sont soumises à ce même déterminisme (tout au moins lorsque l'incubation a lieu sous une photopériode constante). Dans ces conditions, des retards de quelques heures au cours du développement peuvent se traduire, au moment de l'éclosion, par des retards de plusieurs jours.

Supposons que deux facteurs ayant des effets additifs soient en cause. Si chacun d'eux subit un décalage d'une heure, le retard résultant sera de deux heures. Si ce retard affecte un phénomène soumis au rythme nycthéméral, le décalage sera de vingt-quatre heures. Une telle amplification peut se produire au moment de l'éclosion ; si elle peut se produire également pour d'autres phases du développement, l'éclosion sera retardée d'autant de fois vingt-quatre heures.

On ne peut assimiler totalement cet effet, assez particulier, à un effet multiplicatif ; il en est cependant voisin. La dissymétrie des courbes d'éclosion lui est sans doute attribuable, ainsi que la diminution

de cette dissymétrie après une transformation logarithmique.

L' action des radiations se traduisant en particulier par un ralentissement du développement embryonnaire (52), il sera intéressant de voir comment ce ralentissement retentit sur les caractéristiques des courbes d'éclosion.

2) Temps moyen de développement embryonnaire et mortalité

Dans l'exemple précédent, j'ai groupé les éclosions de neuf séries mises ensemble en incubation. Je vais maintenant donner le temps moyen de développement et la mortalité pour chacune de ces séries, afin de montrer comment se distribuent ces deux critères pour des oeufs issus d'un même lot et placés dans les mêmes conditions. Ces valeurs sont consignées dans le tableau I.

Tableau I

Variations du temps de développement et de la mortalité pour neuf séries d'oeufs témoins mis en incubation dans les mêmes conditions

Série	Temps de développement	Mortalité
I	I4,I5	4,52
2	I3,90	3,2I
3	I4,I7	4,70
4	I4,4I	3,88
5	I4,29	4,90
6	I3,95	2,9I
7	I4,44	3,74
8	I4,0I	I,87
9	I4,03	I,74
moyenne	I4,I5	3,50
variance	0,039	I,35
intervalle de confiance	I3,75-I4,55	0,20-5,80

La variance du temps de développement est beaucoup plus faible que celle de la mortalité. L'intervalle de confiance, assez réduit pour le

temps de développement, est plus important pour la mortalité. En pratique, les mortalités inférieures ou égales à 6% ne diffèrent pas significativement les unes des autres. Le temps de développement varie moins car il est une valeur moyenne, alors que la mortalité est une donnée brute.

B - VARIATIONS DU TEMPS DE DEVELOPPEMENT ET DE LA MORTALITE EN FONCTION DE LA DUREE D'HIVERNATION

Si les variations de la mortalité (ou plutôt du pourcentage d'éclosion) en fonction du degré d'élimination de la diapause, ont été très étudiées, notamment par CUBELLS (39), on s'est beaucoup moins soucié de ce qui se passait lors du vieillissement au froid, et personne à ma connaissance n'a décrit les variations du temps de développement. J'ai donc été amené à préciser ces points, en mesurant la mortalité et le temps moyen de développement en fonction de la durée d'hivernation. Les résultats sont consignés dans le tableau 2 pour la mortalité, et le tableau 3 pour le temps de développement. Ils ont été obtenus avec le lot de juin 1961 (cf. page 33).

I) Mortalité

La mortalité, encore forte après quarante jours de froid, atteint après soixante jours, un palier où elle reste minimale. Ce palier semble assez long et, bien que l'absence d'observations entre le quatrième et le septième mois ne permette pas de le certifier, il doit se terminer vers la fin du sixième mois. Il dure donc quatre mois.

La mortalité augmente ensuite, lentement tout d'abord, puis de façon beaucoup plus rapide après dix mois d'hivernation. Elle devient à peu près totale après huit mois d'estivation et treize mois d'hivernation. Pour une durée sensiblement égale d'hivernation, les oeufs ayant subi la plus longue estivation présentent une mortalité plus élevée.

2) Temps de développement

Le tableau 3 donne les valeurs des différentes caractéristiques des courbes d'éclosion pour des oeufs ayant subi divers temps de froid.

Tableau 2

Variations de la mortalité en fonction
de la durée d'hivernation

Estivation	Hivernation (en jours)	N	n	Mortalité %	Int.de confiance ^x
8 mois	39	332	54	16,26	12,45 - 20,70
-	61	298	10	3,36	1,63 - 6,09
6 mois	91	1678	51	3,04	2,27 - 3,91
-	96	614	27	4,40	2,92 - 6,32
-	123	1097	39	3,56	2,54 - 4,82
-	214	306	29	9,48	6,44 - 13,31
-	229	321	45	14,01	10,39 - 18,30
-	306	1472	396	26,90	24,67 - 29,23
-	335	464	202	43,53	40,00 - 48,19
8 mois	322	903	477	52,82	49,50 - 56,04
-	354	1335	1026	76,85	74,53 - 79,00
-	385	451	418	92,68	89,95 - 94,10

^x calculé par la méthode de LISON.

N : nombre total d'oeufs ; n : nombre d'oeufs non éclos.

La moyenne et la variance varient de la même façon. Assez fortes après quarante jours de froid, elles diminuent lentement pour atteindre, après quatre mois, une valeur proche du minimum. Cependant, on obtiendrait sans doute une moyenne et surtout une variance plus faibles, si l'on prolongeait quelque peu la durée d'hivernation.

Dans les deux expériences réalisées après sept mois et sept mois et demi de froid, la température d'incubation a été supérieure à 22°C (par suite de la forte température ambiante), ce qui explique la valeur, anormalement basse, du temps de développement. La valeur réelle doit être comprise entre 13,5 et 14 jours.

Il existe vraisemblablement pour la durée de développement un palier analogue à celui de la mortalité ; il est cependant moins marqué que ce dernier et s'en distingue également par le fait qu'il est atteint après une hivernation beaucoup plus importante.

Après dix mois à basse température, et de façon très nette pour

les trois dernières séries, le temps de développement augmente avec l'hivernation. Cette augmentation reste cependant assez faible et n'a aucune commune mesure avec celle de la mortalité.

Les coefficients de PEARSON varient de façon inversement proportionnelle à la moyenne et à la variance, avec une régularité moins grande toutefois. Pour la dernière série, ces coefficients correspondent à ceux d'une distribution normale, comprenant le même nombre d'individus.

Tableau 3

Variations du temps de développement en fonction de la durée d'hivernation

Hivernation (en jours)	N	Moyenne (jours)	Variance	Int.de confiance de la moyenne	b ₁	b ₂
39 ^x	278	23,54	45,00	22,74 - 24,34	-	-
61 ^x	288	18,88	8,66	18,54 - 19,22	0,63	3,99
91	1627	15,48	8,99	15,33 - 15,63	0,52	2,21
96	587	15,30	5,37	15,11 - 15,49	0,75	3,89
123	1058	14,14	1,49	14,06 - 14,22	1,68	5,89
214	277	12,87	0,46	12,79 - 12,95	0,86	5,80
229	276	12,76	0,54	12,67 - 12,85	1,02	4,94
335	262	15,13	1,05	15,00 - 15,26	2,62	7,44
322 ^x	426	14,35	0,96	14,25 - 14,45	0,80	4,40
354 ^x	309	15,18	1,51	15,04 - 15,32	1,30	4,28
385 ^x	33	16,09	1,65	15,64 - 16,54	0,61	3,15

N : nombre d'oeufs éclos : b₁ , b₂ : coefficients de PEARSON.

Les lots marqués du signe ^x ont subi huit mois d'estivation, les autres lots six mois seulement.

3) Interprétation

Qu'il s'agisse du temps de développement ou de la mortalité, on observe trois phases successives en fonction de la durée d'hivernation :

- une diminution,
- un palier,

- une augmentation.

Je considérerai successivement chacune de ces phases.

a) Diminution du temps de développement et de la mortalité

Le fait marquant est la différence de comportement entre la mortalité et le temps de développement. On peut tenter de l'interpréter en supposant qu'il existe dans la diapause une partie dure qui ne peut s'éliminer qu'à basse température, et un reste qui est normalement éliminé à 3°C mais peut aussi l'être à 22°C. Dans ce dernier cas, le temps de développement est accru, soit parce que le développement proprement dit ne peut reprendre qu'après élimination totale de la diapause, soit parce qu'il est ralenti tant que cette élimination n'est pas complète, la première hypothèse paraissant plus vraisemblable.

Lorsque la partie dure est éliminée, les oeufs peuvent éclore. Le pourcentage d'oeufs ayant atteint ce stade augmente avec l'hivernation, et, dans le cas présent, après deux mois de froid tous les oeufs peuvent éclore (la mortalité résiduelle correspondant au palier ne peut être attribuée à la diapause).

Pour une durée d'hivernation faible, les oeufs qui éclosent ont tout juste éliminé la partie dure, ils doivent donc éliminer à 22°C tout le reste de diapause, et leur développement est long. Au fur et à mesure que l'hivernation augmente, la proportion d'oeufs ayant éliminé tout ou partie du reste de diapause s'accroît et de ce fait le temps moyen de développement diminue. On arrive à la durée minimale lorsque le reste de diapause a disparu pour tous les oeufs.

Ainsi les variations de la mortalité et celles du temps de développement correspondraient à deux parties différentes de la diapause. Une expérience encore inachevée montre que, après une durée d'hivernation très faible, l'incubation peut durer plusieurs mois. C'est ainsi que des oeufs mis en incubation en février 1963, ayant commencé à éclore en mars, présentent encore des éclosions en janvier 1964. On peut alors se demander si toute la diapause ne pourrait pas être éliminée à 22°C, en ayant soin de placer les oeufs dans des conditions telles qu'ils ne se dessèchent pas. Dans l'expérience citée, le pourcentage d'éclosion reste inférieur à 30%.

et les éclosions intervenues après deux mois d'incubation représentent une faible partie de l'ensemble (5 à 6 éclosions par lot de 100 oeufs). Si donc on arrive à éliminer toute la diapause à 22°C, ce sera pour une proportion très faible des oeufs. Dans le cas général, il existe bien une partie dure de la diapause qui doit être éliminée à basse température.

b) Palier

Lorsque la partie dure de la diapause est éliminée, la mortalité atteint le palier où elle reste minimale, il paraît en aller de même pour le temps de développement lorsque tout reste de diapause a disparu. La partie commune de ces deux paliers correspond à la période optimale de mise en incubation.

Il n'est pas certain à priori qu'il existe réellement un palier en ce qui concerne le temps de développement. Il serait en effet possible qu'une fois la diapause éliminée, malgré la basse température, la morphogénèse reprenne, et de ce fait, lors de la mise en incubation, les embryons seraient plus "avancés" ; ils pourraient alors éclore plus rapidement.

Il semble bien cependant qu'il n'en soit rien. Les observations réalisées sur d'autres lots mettent en évidence l'existence d'un palier. La température d'hivernation est par ailleurs trop basse (2°C) dans mes expériences pour permettre une reprise sensible de la morphogénèse.

c) Augmentation de la mortalité et du temps de développement

Cette troisième phase montre de façon très nette que le maintien prolongé des oeufs à basse température leur est préjudiciable. Il se produit alors un vieillissement qui affecte probablement le vitellus et l'embryon.

Plusieurs auteurs ont signalé une perte importante de poids pendant la diapause ; ce phénomène doit se poursuivre lors du maintien prolongé au froid, et s'accompagner d'un appauvrissement ou d'une modification du vitellus suffisants pour entraîner une mortalité. En réalité dans mes expériences l'hygrométrie est convenable, ces pertes de poids sont moins élevées que ne le rapportent les auteurs. Il est vraisemblable que la mortalité augmenterait plus rapidement si l'hygrométrie était plus basse.

L'augmentation du temps de développement avec l'hivernation pro-

vient sans doute d'une diminution de vigueur de l'embryon. Il est d'ailleurs à remarquer que la mortalité croît plus rapidement lorsque se manifeste cette augmentation de la durée de développement. Les effets défavorables des modifications du vitellus et de l'embryon doivent alors s'ajouter.

d) Variations des autres caractéristiques des courbes d'éclosion

La variance varie de la même façon que la moyenne du temps de développement. La diminution de la moyenne au fur et à mesure que la diapause s'élimine est due, d'une part au fait que les éclosions commencent plus tôt (c'est-à-dire que le temps séparant la mise en incubation de la première éclosion est plus court), d'autre part au fait que la variance est plus faible.

Cette diminution de la variance - due au fait que les éclosions sont plus groupées - est liée à la disparition du reste de diapause. Si l'on prend des oeufs mis en incubation après trois mois de froid par exemple, la variance observée peut se décomposer en deux fractions : une provenant du reste de diapause, l'autre liée au développement embryonnaire à proprement parler. Au fur et à mesure que s'élimine le reste de diapause, une des deux composantes disparaît et la variance diminue.

L'augmentation de la variance pour des hibernations supérieures à trois cents jours provient uniquement de la plus grande variabilité des embryons. En effet, tous ne sont pas affectés de façon égale par le vieillissement et les temps de développement des divers individus sont soumis à des variations plus importantes.

4) Conclusion

Ces expériences effectuées sur un même lot, ont été confirmées dans leurs diverses phases par l'étude d'autres lots.

Elles mettent en évidence deux modalités très différentes de l'action du froid sur les oeufs de Bombyx mori.

Le froid a un effet favorable tant que la diapause n'est pas totalement éliminée. La mortalité et le temps de développement tout d'abord élevés, atteignent une valeur minimale lorsque l'hivernation est suffisante.

Pendant un certain temps, le froid n'a aucune action favorable ou

défavorable sur les oeufs. Si le maintien à basse température se poursuit, la mortalité augmente, lentement au début, puis de façon très rapide au moment où le temps de développement augmente à son tour.

La durée d'hivernation permet donc de faire varier l'état physiologique des oeufs et constitue ainsi un outil très commode pour l'étude des variations de radiosensibilité.

C H A P I T R E I I I : I R R A D I A T I O N D A N S L E S C O N D I T I O N S N O R M A L E S

J'ai défini dans le chapitre précédent les conditions normales pour les témoins. Je considère comme normale une irradiation effectuée sur des oeufs se trouvant dans ces conditions normales, dans les premières heures de l'incubation. Suivant les cas, cette irradiation a lieu dès la sortie du frigidaire ou sept à huit heures après.

A - P R E S E N T A T I O N D ' E X E M P L E S

J'ai pris comme exemples trois expériences effectuées respectivement sur chacun des trois lots d'oeufs utilisés au cours de ce travail (cf. page 31).

I) Oeufs de juin 1961

L'expérience rapportée a été effectuée sur des oeufs ayant subi six mois d'estivation et quatre mois d'hivernation. Ces oeufs ont été mis en incubation à huit heures et irradiés à partir de quinze heures, le même jour. La température est restée voisine de 24°C pendant la durée de l'exposition. Les lots ont été plus importants que d'ordinaire : les chenilles devant être élevées, il était nécessaire d'obtenir un nombre suffisant d'éclosions dans chaque série.

Les résultats sont consignés dans les tableaux 4 et 5. Dans le tableau 4, j'ai donné le détail des éclosions journalières, mais pour faci-

liter la présentation, j'ai groupé les trois répétitions correspondant à chaque traitement en une seule série. Dans le tableau 5, où figurent seulement les résultats des calculs, j'ai donné les valeurs obtenues pour chaque répétition. Les coefficients b_1 et b_2 de PEARSON ont été calculés seulement pour les données groupées par traitement.

Tableau 4

Détail des variations de la mortalité et du temps de développement pour des oeufs ayant eu six mois d'estivation et quatre mois d'hivernation, et irradiés entre la septième et la dixième heure d'incubation.

Jour de l'éclosion		Dose délivrée (en r)				
		Témoin	500	1 000	2 000	3 000
I2	I8	-	-	-	-	-
I3	I33	22	2	-	-	-
I4	I67	201	64	15	2	
I5	82	179	176	58	22	
I6	20	83	168	153	75	
I7	I3	26	81	98	94	
I8	4	13	30	42	52	
I9	-	2	9	17	22	
20	4	2	8	16	16	
21	-	-	1	2	5	
22	-	1	1	1	2	
total éclos		441	529	540	402	290
non éclos		19	15	46	152	219
total		460	544	586	554	509
mortalité %		4,14	2,83	8,20	27,56	42,94
temps moyen		14,07	14,90	15,80	16,56	17,17
variance		1,57	1,36	1,68	1,88	2,03
coefficients de	b ₁	2,22	1,97	1,88	1,35	0,55
	PEARSON b ₂	7,09	6,80	4,78	4,00	3,59

On constate tout d'abord que le temps moyen de développement et la mortalité augmentent avec la dose. L'analyse de variance montre que le temps de développement est affecté par une dose de 500 r, alors qu'il faut 1 000 r pour faire apparaître une différence de mortalité. Pour les doses supérieures, tous les traitements diffèrent les uns des autres.

Dans les conditions de l'expérience, le temps de développement constitue donc un critère plus sensible que la mortalité ; par contre cette dernière croît beaucoup plus rapidement avec la dose.

Dans les limites de sensibilité, ces deux effets sont proportionnels au logarithme des doses. Si on calcule les équations des droites de régression correspondantes, on obtient :

$$\text{pour le temps de développement} \quad y = 2,86 x + 7,20 \quad (1)$$

$$\text{pour la mortalité :} \quad y = 71,6 x - 207 \quad (2)$$

Un test de linéarité montre que ces deux équations sont acceptables. On peut calculer la dose à partir de laquelle il y aura un effet observable pour chacun des deux phénomènes ; on obtient ainsi un seuil de sensibilité. Il suffit pour cela d'égaliser y à la valeur des témoins dans les équations (1) et (2). Les seuils de sensibilité sont respectivement 250 r pour le temps de développement et 890 r pour la mortalité.

Ces équations mettent en évidence la très grande différence de pente entre la droite représentant les variations du temps de développement et celle représentant les variations de la mortalité.

Considérons maintenant les autres caractéristiques des courbes d'éclosion correspondant aux divers traitements.

La variance augmente faiblement avec la dose. Elle varie à peu près comme la moyenne, mais de façon beaucoup moins régulière. Une des séries témoins présente une variance supérieure à celle de deux des séries ayant reçu 3 000 r (tableau 5), alors que les moyennes des répétitions correspondant aux divers traitements ne se chevauchent jamais.

Les coefficients b_1 et b_2 de PEARSON diminuent régulièrement avec la dose.

2) Oeufs de juin 1962

Dans le tableau 6, je donne les résultats d'une autre expérience réalisée dans des conditions voisines. En réalité, dans ce dernier cas, les

oeufs avaient déjà subi une durée d'hivernation un peu plus longue que la normale, et l'irradiation a eu lieu dès la sortie du frigidaire. Je cite cet exemple parce qu'il est un des seuls où je sois allé jusqu'à 5 000 r.

Tableau 5

Variations de la mortalité et du temps de développement pour des oeufs ayant eu six mois d'estivation et quatre mois d'hivernation, et irradiés entre la septième et la dixième heure d'incubation. Résultats concernant les trois répétitions de chaque traitement.

	Répétitions	Dose délivrée (en r)				
		Témoin	500	1 000	2 000	3 000
mortalité	1	4,70	2,45	10,06	30,20	44,21
	2	4,52	2,65	6,32	26,98	41,14
	3	3,21	3,38	8,23	25,49	43,48
	moyenne	4,14	2,83	8,20	27,56	42,94
temps moyen	1	14,15	14,95	15,75	16,69	17,11
	2	13,90	14,90	15,87	16,58	17,16
	3	14,17	14,85	15,79	16,41	17,24
	moyenne	14,07	14,90	15,80	16,56	17,17
variance	1	1,84	1,43	1,61	1,52	1,83
	2	1,20	1,42	1,71	1,95	1,80
	3	1,63	1,22	1,69	2,07	2,52
	moyenne	1,56	1,36	1,67	1,85	2,05
p.p.d.s.	mortalité	: 3,00				
	temps de développement	: 0,36				

Ce tableau montre que le temps moyen de développement et la mortalité varient de la même façon que dans le cas précédent, toutefois, la sensibilité paraît moins grande. Il faut en effet attendre 1 000 r pour observer une différence sur les temps de développement et 2 000 r pour voir une différence de mortalité. Celle-ci est beaucoup plus forte que dans l'exemple précédent pour une même dose.

Si on calcule les équations des droites de régression par rapport

au logarithme des doses on obtient :

pour le temps de développement : $y = 3,91 x + 4,02$ (3)

pour la mortalité : $y = 132 x - 385$ (4)

Un test de linéarité montre que l'équation (3) est acceptable. L'équation (4) ne l'est pas tout à fait, elle rend cependant assez bien compte des variations de la mortalité entre 2 000 et 5 000 r. Les pentes des droites sont plus élevées que dans l'exemple précédent, et la différence de pente entre la droite représentant la mortalité et la droite représentant le temps de développement est plus accusée. Le seuil de sensibilité est de 510 r pour le temps de développement, et de 960 r pour la mortalité.

Tableau 6

Variations du pourcentage de mortalité et du temps de développement pour des oeufs ayant eu sept mois d'estivation et six mois d'hivernation et irradiés dès la sortie du frigidaire.

	Dose délivrée (en r)						
	Témoin	500	1 000	2 000	3 000	4 000	5 000
mortalité	8,87	8,22	11,71	43,79	79,46	92,48	99,03
temps moyen	14,60	14,85	15,43	16,56	17,78	18,35	-
variance	0,70	0,83	1,09	1,30	1,53	2,69	-
b ₁	5,52	4,11	1,01	1,32	0,59	0,16	-
b ₂	17,20	10,12	4,02	6,28	3,87	1,67	-
p.p.d.s.	mortalité	: 5,72					
	temps de développement	: 0,60					

La variance augmente avec la dose de façon nettement plus importante que dans le cas précédent. La variance à 4 000 r paraît aberrante, cette différence est vraisemblablement due au trop petit nombre d'éclosions.

Les coefficients b₁ et b₂ de PEARSON diminuent de façon régulière avec la dose (l'augmentation constatée à 2 000 r par rapport au traitement à 1 000 r est sans doute due à un facteur accidentel).

3) Oeufs d'octobre 1962

Les oeufs de ce lot ont montré une diapause très intense. Il a fallu quatre mois de froid pour obtenir le palier de la mortalité et six mois pour obtenir celui du temps de développement, et ces paliers sont restés à un niveau très élevé.

L'exemple cité (tableau 7) correspond à une hibernation de sept mois, l'irradiation ayant eu lieu dès la sortie du frigidaire.

Tableau 7

Variations de la mortalité et du temps de développement pour des oeufs ayant subi deux mois d'estivation et sept mois d'hibernation et irradiés dès la sortie du frigidaire.

	Dose délivrée (en r)			
	Témoin	500	1 000	2 000
mortalité	15,74	18,86	17,93	22,40
temps moyen	19,27	20,02	21,21	21,95
variance	10,78	9,60	12,07	6,59
b_1	2,92	3,20	2,53	1,80
b_2	6,28	7,23	5,30	5,84

pas de différence significative pour la mortalité
p.p.d.s. temps de développement : 0,45

La mortalité est peu affectée par la dose, l'analyse de variance ne montre aucune différence même à 2 000 r. Par contre, le temps de développement augmente régulièrement avec la dose : à 1 000 r il est nettement différent de celui des témoins. On obtient pour la droite de régression l'équation :

$$y = 3,22 x + 11,4 \quad (5)$$

Un test de linéarité montre que cette équation est acceptable. Le seuil de sensibilité calculé est de 280 r. Aucune droite ne peut être déterminée pour la mortalité.

La variance est modifiée par 2 000 r seulement et contrairement à ce qui s'observe dans les autres expériences, elle diminue alors. Elle est dans tous les cas très élevée et il est possible que cette diminution soit

due à l'élimination de quelques oeufs aberrants.

Les coefficients b_1 et b_2 sont également très élevés et diminuent peu sous l'effet des radiations.

B - INTERPRETATION

La mortalité et le temps de développement varient toujours de la même façon : le temps de développement est affecté par des doses plus faibles, en revanche la mortalité croît plus rapidement avec la dose.

J'ai émis (pages 7 et 8) une hypothèse, reliant l'augmentation du temps de développement à la restauration, pour des organismes en voie de croissance rapide tels que les embryons.

Les doses faibles n'entraînent pas de mortalité et le seul effet observable est alors l'augmentation du temps de développement. Lorsque la dose augmente, on atteint un seuil au-delà duquel il n'y a plus de restauration possible, la mortalité apparaît. La proportion des oeufs pour lesquels ce seuil est atteint croît avec la dose jusqu'à ce que la mortalité soit totale. Le temps de développement augmente lui aussi avec la dose, mais cette augmentation reste limitée, puisqu'au-delà d'un certain seuil, l'embryon ne se développe plus (tout au moins n'écloît pas).

L'hypothèse émise rend compte de façon satisfaisante des résultats observés.

La mortalité corrigée à 2 000 r, passe de 7,9% dans la troisième expérience à 24,4% et 38,3% dans la première et la deuxième. Pour les mêmes expériences, l'allongement relatif du temps de développement est respectivement de 13,9 , 17,7 et 13,4%.

Le comportement des deux phénomènes conduit à penser que l'effet propre des radiations est sensiblement le même dans les trois cas, les variations de la mortalité étant liées à des différences dans les facultés de restauration.

Tous les embryons ne sont pas également sensibles aux radiations; il s'en suit une variabilité dans l'allongement du temps de développement. Cette variabilité s'ajoutant à la variabilité propre du développement embryonnaire entraîne une augmentation de la variance.

La diminution du coefficient b_2 peut s'expliquer de la même fa-

çon ; la variabilité du temps de développement augmentant, les éclosions deviennent moins groupées et les courbes sont plus aplaties.

La diminution du coefficient b_1 est d'interprétation plus délicate. Deux hypothèses peuvent être envisagées :

- la dissymétrie diminue parce que les oeufs "traînants", plus faibles, ont été éliminés par les radiations ;

- sous l'effet des rayonnements, le sommet de la courbe est déplacé vers la droite, ce qui atténue la dissymétrie.

La première hypothèse doit être rejetée, puisque le coefficient b_1 diminue (notamment dans la deuxième expérience) avant qu'apparaisse la mortalité.

J'ai montré (page 44) que le temps de développement ne pouvait varier que par sauts de vingt-quatre heures. J'ai supposé qu'une amplification des retards, due au rythme nycthéméral, affectait également des phases du développement embryonnaire autres que l'éclosion, cette amplification étant responsable de la dissymétrie des courbes. Dans cette hypothèse, des décalages de quelques heures peuvent se traduire au moment de l'éclosion par un retard de plusieurs jours.

L'effet d'un ralentissement sera ressenti beaucoup moins par les oeufs déjà décalés qui ont des temps libres, que par les oeufs qui n'avaient subi aucun décalage et pour qui tout ralentissement se traduira par un retard d'au moins vingt-quatre heures. La première partie de la courbe sera donc plus affectée que la deuxième partie, ce qui se traduira par un déplacement du sommet vers la droite et une diminution de la dissymétrie.

La figure III montre la forme des courbes d'éclosion du lot témoin et du lot ayant reçu 3 000 r (expérience I). La courbe des oeufs irradiés est plus aplatie et nettement moins asymétrique que la courbe des témoins. L'irradiation se traduit par une translation de la courbe, avec décalage du sommet vers la droite. Les courbes des pourcentages cumulés montrent que le retard est acquis surtout dans la partie correspondant au maximum d'éclosions. Dans la dernière partie, la courbe des irradiés croît plus vite.

L'interprétation que j'ai donnée ci-dessus est donc trop schématique, il faudrait tenir compte des différences de sensibilité des oeufs. En effet, les oeufs les moins sensibles éclosent les premiers et pour ces oeufs là le décalage est moins important, ce qui tend également à rendre la

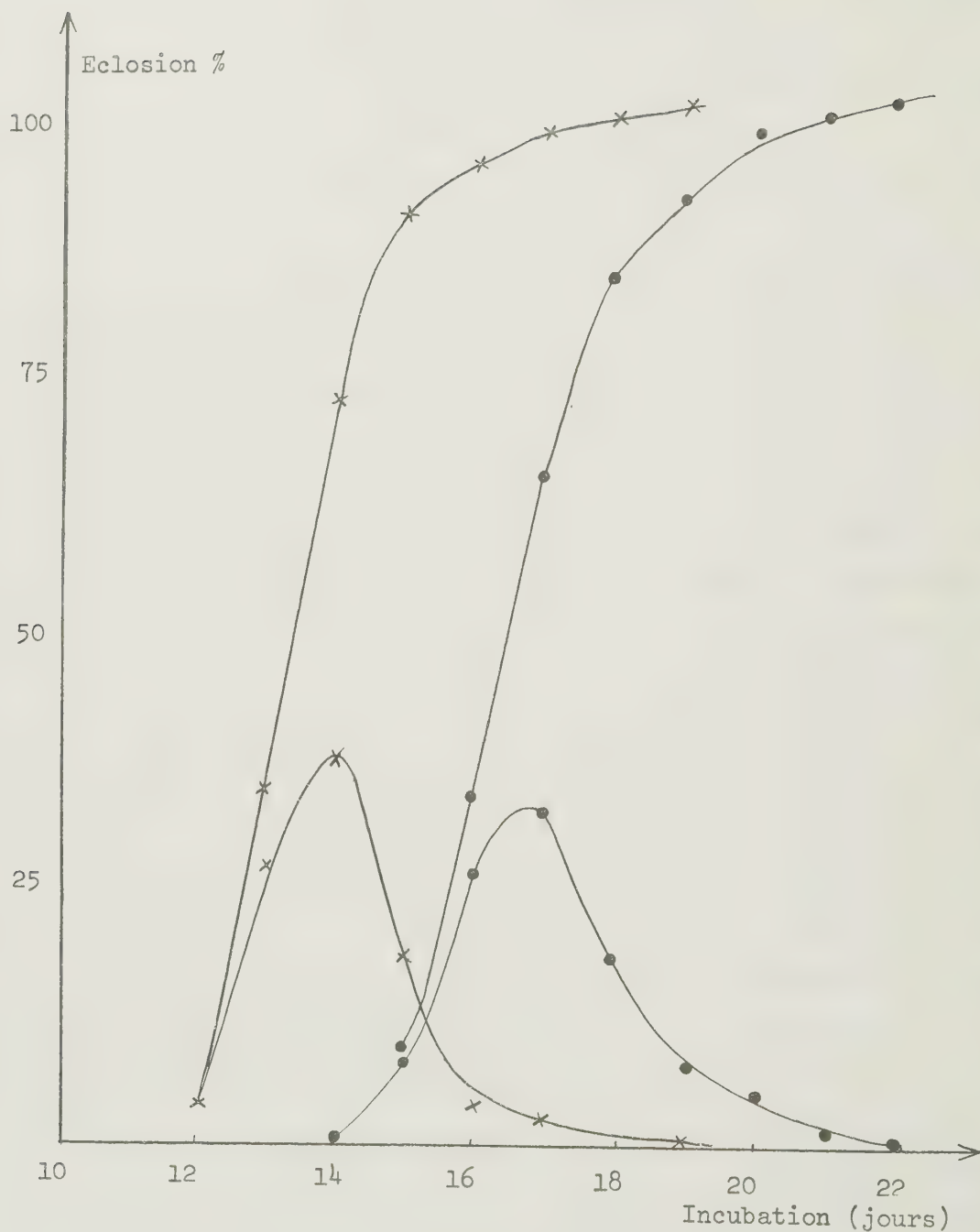


Figure III

Courbes d'éclosion directes et cumulées des oeufs témoins (x) et d'oeufs irradiés à 3.000 r (●) sept à huit heures après la sortie du frigidaire. Ces oeufs avaient subi six mois d'estivation et quatre mois d'hivernation.

courbe plus symétrique.

La variation des caractéristiques des courbes d'éclosion sous l'effet des radiations est due, d'une part aux différences de radiosensibilité des embryons, qui entraînent une variabilité plus grande, d'autre part au fait que le ralentissement est ressenti plus fortement par les embryons ayant un temps de développement moyen que par ceux dont le développement est déjà freiné par d'autres phénomènes.

Sous l'effet de durées d'hivernation importantes, la mortalité et le temps de développement augmentent. Certains auteurs (15, 53, 54) ayant comparé l'action des radiations à celle du vieillissement, on peut essayer de voir ce qu'il en est dans le cas présent.

Il y a une différence, très importante à mes yeux, dans le comportement des deux critères suivant que l'on fait varier la dose ou la durée d'hivernation (cf. figures IV et V).

Lorsque l'on irradie les oeufs, le temps de développement augmente avant la mortalité, le phénomène inverse se produit lorsqu'on augmente la durée d'hivernation. J'ai montré que dans le premier cas, on pouvait interpréter cette différence, en reliant l'allongement du temps de développement à la restauration, la mortalité intervenant lorsqu'un certain seuil, variable suivant chaque individu, est atteint. Dans le second cas, il ne se passe rien de tel, la mortalité est liée tout d'abord à un appauvrissement du vitellus, le temps de développement augmente quand l'embryon subit des modifications défavorables.

C - CONCLUSION

L'action des rayons X se manifeste par une augmentation de la mortalité et de la durée de développement. Cette durée est affectée par des doses plus faibles, par contre elle croît moins vite que la mortalité. Les variations de ces deux phénomènes sont proportionnelles au logarithme des doses. Il semble que l'on puisse interpréter ces variations en reliant l'allongement du temps de développement à l'effet propre des radiations, la mortalité résultant de l'interaction de cet effet propre et de la restauration.

Les rayons X augmentent la variabilité du temps de développement

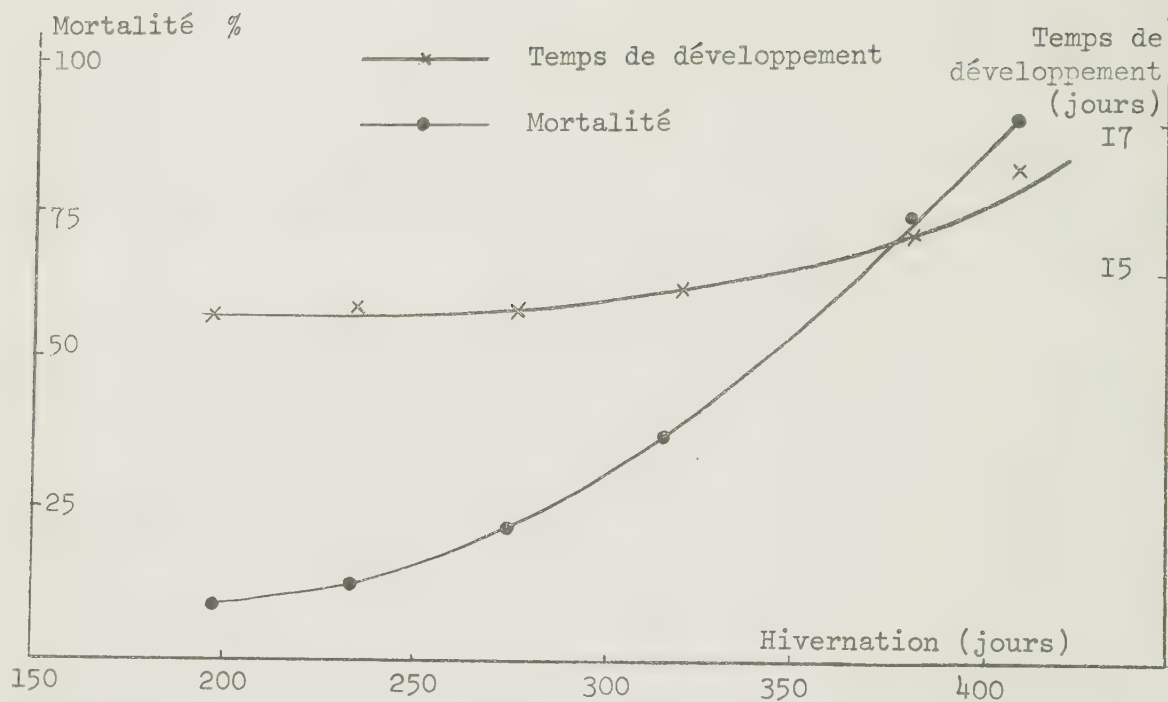


Figure IV

Variations de la mortalité et du temps de développement avec l'hivernation

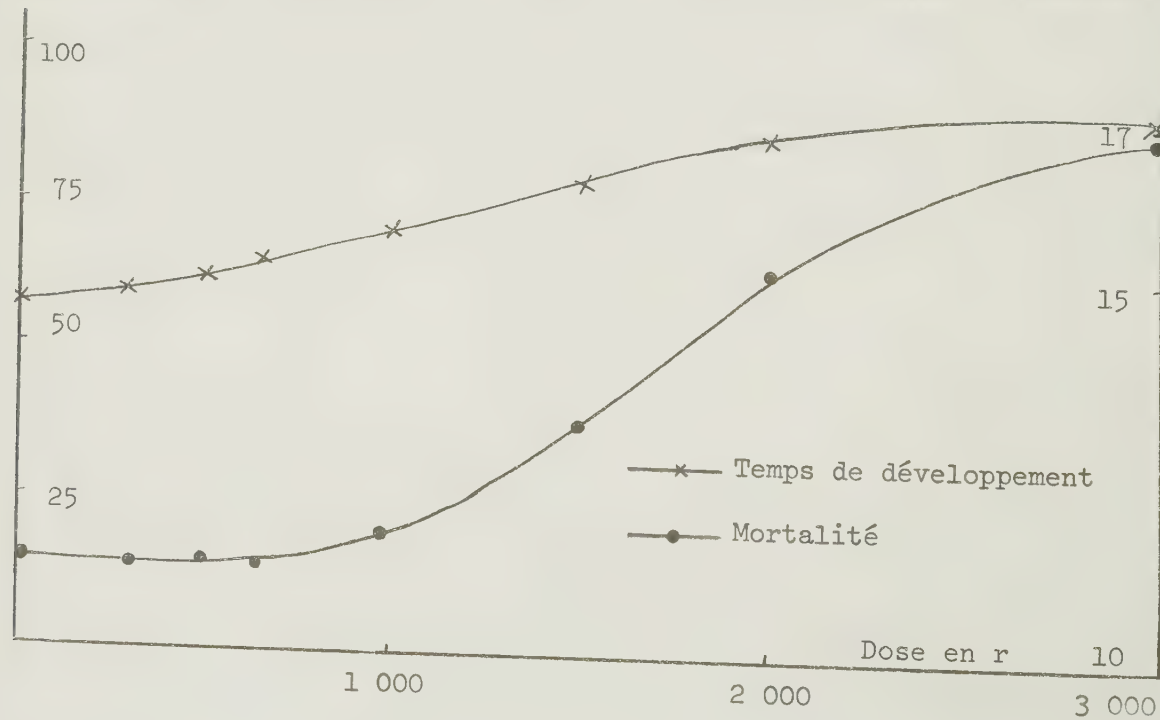


Figure V

Variations du temps de développement et de la mortalité avec la dose.

et ont des effets différents sur la première et la dernière partie des courbes d'éclosion, ce qui se manifeste par des modifications de la variance et des coefficients b_1 et b_2 .

Malgré certaines similitudes apparentes, on ne peut pas comparer l'action des rayons X et du vieillissement au froid.

C H A P I T R E IV : MODIFICATION DES CONDITIONS DE L'IRRADIATION

Ainsi que je l'ai indiqué dans mon plan expérimental, la seule modification porte sur le moment du développement embryonnaire où a lieu l'irradiation. On peut considérer trois périodes principales :

- le début du développement embryonnaire après la fécondation,
- la diapause,
- la reprise du développement embryonnaire après élimination de la diapause jusqu'à l'éclosion.

A - DEBUT DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE

Cette période est difficile à étudier pour plusieurs raisons.

On ne peut obtenir des oeufs jeunes en quantité suffisante qu'aux mois de juin ou juillet, ou à la rigueur en octobre (si les conditions climatiques sont favorables). Les oeufs ne sont pas tous au même stade au moment de l'irradiation, ce qui entraîne une hétérogénéité supplémentaire.

Par ailleurs, on ne peut observer les effets qu'après élimination de la diapause, soit au mieux, cinq à six mois plus tard. Le ralentissement du métabolisme après irradiation diminue les dégâts et les résultats risquent ainsi d'être faussés.

Il est possible enfin que les radiations appliquées à ce stade aient une influence sur l'intensité de la diapause. Dans ce cas, on risque de comparer des oeufs n'ayant pas tous le même degré d'élimination de la

diapause, ce qui fausserait sérieusement les résultats.

Deux méthodes permettent de pallier en partie ces inconvénients. La première, qui est aussi la meilleure, consiste à opérer sur des oeufs sans diapause, présentant un développement embryonnaire continu. On étudierait alors en même temps tout le développement, depuis la ponte jusqu'à l'éclosion. Je n'ai pas pu me procurer de race polyvoltine assez tôt pour effectuer ce travail.

La deuxième méthode est basée sur l'emploi du traitement à l'acide chlorhydrique. Des oeufs monovoltins traités, au stade rouge vineux, par de l'acide chlorhydrique à 44°C, pendant quatre minutes, continuent à se développer sans interruption jusqu'à l'éclosion. Cette méthode présente d'autres inconvénients. Si l'on traite les oeufs après irradiation, on introduit une variabilité supplémentaire, qui peut être importante, et surtout le choc ainsi créé doit augmenter fortement les dégâts. J'ai effectué deux expériences de cette façon et n'en ai rien obtenu.

Par contre, si on irradie des oeufs préalablement traités par HCl on n'introduit pas une hétérogénéité notable et le choc, précédant l'irradiation, a peu ou pas d'effet de synergie. Deux expériences réalisées ainsi ont donné des résultats satisfaisants.

I) Présentation des résultats

Les expériences que je rapporte ici ont toutes été effectuées avec des oeufs obtenus au laboratoire (octobre 1962). Ces oeufs ont toujours présenté une mortalité et un temps de développement supérieurs à la normale.

a) Irradiation après traitement par HCl

Les résultats sont consignés dans le tableau 8. Pour l'expérience II, je n'ai pas pu mesurer le temps de développement. La différence de mortalité pour les témoins entre les deux expériences, est liée au traitement par HCl, qui n'a pas été imposé en même temps pour les deux expériences. Il suffit que la proportion d'oeufs trop (ou pas assez) avancés diffère pour que les résultats du traitement ne soient pas les mêmes. Les embryons non éclos ne sont pas tous morts ; il y a également des embryons qui se trouvent en diapause et qui pourraient éclore s'ils subissaient une hibernation suffisante.

la première expérience, la mise en incubation a eu lieu avant élimination complète de la diapause, c' est pourquoi les temps de développement sont plus longs.

Tableau 9

Variations de la mortalité et du temps de développement pour des oeufs irradiés au stade jaune clair.

	Témoin	200	350	500	I 000
mortalité	15,26	34,51	33,76	51,00	57,94
mortalité corrigée	-	22,7	21,7	42,2	50,4
temps moyen	23,52	26,53	26,54	27,68	29,16
variance	27,82	42,51	21,54	49,10	65,24
$\frac{\Delta T}{T} \times 100$	-	12,8	12,9	17,7	24,0

p.p.d.s. temps de développement : 1,40
 mortalité : 8,00

Pour les oeufs irradiés au stade jaune clair, la mortalité et l'allongement relatif du temps de développement sont très importants. Le traitement à 200 r fait apparaître des différences significatives. Dans les deux autres expériences (tableaux IO et II), la mortalité reste très faible même à 2 000 r. L'analyse de variance ne fait apparaître aucune différence significative (l'expérience correspondant au tableau IO montrait une assez grande hétérogénéité).

Le temps de développement varie de la même manière dans les deux expériences ; il faut I 000 r pour entraîner un effet observable. A 2 000 r l'allongement relatif est de 10,2 et 10,7% respectivement, alors que dans les conditions normales, pour les oeufs du même lot, il est de 13,9% ; à I 000 r pour les mêmes expériences on obtient 6,0 , 6,7 et 10,0%.

2) Conclusion

Au début du développement embryonnaire, les oeufs sont très sensibles aux rayons X. L'intervention de la diapause atténue les effets des

radiations, ce d'autant plus que le traitement est plus tardif. Si l'on opère sur des oeufs préalablement traités par HCl, et ne présentant de ce fait pas de diapause, la mortalité est très élevée. Cette mortalité semble diminuer lorsque les oeufs se développent.

Tableau IO

Variations de la mortalité et du temps de développement pour des oeufs irradiés à un stade intermédiaire entre le rouge vineux et le gris lilas.

	Témoin	200	500	I 000	2 000
mortalité	II,54	I3,I3	8,03	2I,88	I5,80
temps moyen	2I,62	2I,39	2I,70	22,9I	23,83
variance	I3,26	II,48	I2,63	II,6I	9,I2
$\frac{\Delta T}{T} \times I00$	-	-	0,4	6,0	I0,2

pas de différence significative pour la mortalité

p.p.d.s. temps de développement : I,I0

Tableau II

Variations de la mortalité et du temps de développement pour des oeufs irradiés au début de la diapause (stade gris lilas atteint depuis deux jours).

	Témoin	200	500	I 000	2 000
mortalité	7,09	IO,6I	8,4I	9,94	IO,4I
temps moyen	2I,56	2I,32	2I,67	22,98	23,86
variance	I2,I5	IO,0I	I2,69	I3,0I	9,66
$\frac{\Delta T}{T} \times I00$	-	-	0,5	6,6	I0,7

pas de différence significative pour la mortalité

p.p.d.s. temps de développement : 0,75

B - DIAPAUSE

Il y a deux manières d'étudier les variations de radiosensibilité durant cette période.

La première consiste à irradier des oeufs à divers moments de l'estivation et de l'hivernation, puis à comparer leur sensibilité en les mettant en incubation tous en même temps, une fois la diapause éliminée. On peut ainsi étudier tous les stades, depuis l'installation de la diapause, jusqu'à la reprise d'activité quelques mois plus tard.

On peut aussi mettre en incubation des oeufs ayant subi des durées variables d'hivernation et d'estivation, et les irradier dans les quelques heures suivant la sortie du frigidaire. De cette façon, l'effet des radiations n'est pas atténué. Toutefois, cette méthode s'applique seulement à des oeufs dont la diapause est suffisamment éliminée, sinon le taux d'éclosion est trop faible et les variations des témoins trop importantes, de sorte que l'effet des rayonnements ne peut être mis en évidence.

Ces deux méthodes ont été utilisées et leurs résultats vont dans le même sens. Ils sont malheureusement incomplets, la plupart des expériences ayant été effectuées sur des oeufs d'octobre 1962, qui, aux doses employées, n'ont présenté aucune mortalité.

I) Résultats obtenus avec la première méthode (tableaux I2 et I3)

Pour des oeufs irradiés pendant estivation, la mortalité même à 2 000 r est nulle. De même l'allongement relatif du temps de développement est très faible.

Pour des oeufs irradiés pendant hivernation, et mis en incubation sitôt après l'irradiation, la mortalité augmente au fur et à mesure que la diapause s'élimine, le temps de développement varie semblablement mais de manière moins nette.

La mortalité à 1 000 r n'est jamais significative, elle le devient à 2 000 r pour les deux dernières expériences. Le temps de développement n'est jamais modifié à 500 r ; le traitement à 1 000 r fait apparaître une différence dans tous les cas.

Tableau I2

Influence de l' élimination de la diapause sur la sensibilité aux rayons X.

	Temps d'hivernation avant irradiation	Témoin	500	I 000	2 000
temps moyen	x	15,53	15,85	16,30	16,60
	45 j	15,50	15,87	16,34	17,11
	59 j	15,92	16,09	16,96	18,04
	88 j	15,76	16,21	16,39	17,66
	x	4,55	3,41	4,93	5,27
	45 j	2,10	3,35	7,28	7,68
	59 j	4,56	2,96	8,03	14,98
	88 j	1,93	5,30	6,80	16,32

* Ces oeufs ont été irradiés pendant l'estivation, deux jours avant la mise au frigidaire
Tous les lots ont eu six mois d' estivation et 91 jours d'hivernation.

Tableau I3

Variations de la mortalité corrigée et de l'allongement relatif du temps de développement à 2 000 r pour les oeufs de l' expérience consignée dans le tableau I2.

durée de l'hivernation	x	45	59	88
mortalité corrigée %	0,75	5,70	10,92	14,68
allongement relatif %	6,89	10,39	13,32	12,05

2) Résultats obtenus avec la deuxième méthode (tableaux I4 et I5)

Dans tous les cas, la mise en incubation a eu lieu le matin entre huit et neuf heures, et l'irradiation autour de seize heures.

Ces expériences confirment les précédentes, la mortalité et le temps de développement augmentent, pour une même dose, au fur et à mesure que la diapause s'élimine.

Dans les deux premières séries, il faut 2 000 r pour faire apparaître une mortalité significative, dans les deux dernières expériences, 1 000 r suffisent. Le temps de développement est affecté dès 500 r dans les

deux séries où cette dose a été employée. L'allongement relatif, faible après 61 jours, augmente nettement dès 96 jours. La mortalité corrigée commence à croître plus tard.

Tableau I4

Variations de radiosensibilité pendant la diapause pour des oeufs irradiés sept à huit heures après la sortie du frigidaire.

	Hivernation	Témoin	500	I 000	2 000	3 000
Temps moyen	61 j	18,93	-	20,06	21,09	21,63
	96 j	15,30	15,92	16,83	17,67	-
	117 j	14,19	-	16,15	16,92	-
	123 j	14,07	14,90	15,80	16,56	17,17
Mortalité	61 j	3,36	-	3,64	11,95	13,94
	96 j	4,45	5,89	4,89	15,62	-
	117 j	1,63	-	7,67	21,25	-
	123 j	4,14	2,83	8,20	27,56	42,94

Tableau I5

Variations de la mortalité corrigée et de l'allongement relatif du temps de développement à 2 000 r pour les oeufs de l'expérience consignée dans le tableau I4.

durée de l'hivernation	61	96	117	123
mortalité corrigée %	8,89	11,69	19,95	24,43
allongement relatif %	11,41	15,49	19,24	17,70

Dans les tableaux I6 et I7 figurent les résultats obtenus par cette méthode avec des oeufs d'octobre.

Aucun traitement ne fait apparaître de différence pour la mortalité. Dans la première série, il faut 2 000 r pour modifier significativement le temps de développement, dans la deuxième série 1 000 r suffisent, et dans les deux dernières, la différence apparaît dès 500 r.

La mortalité corrigée varie peu avec la durée de l'hivernation, par contre l'allongement relatif est nettement accru.

Tableau I6

Variations de radiosensibilité pendant la diapause pour des oeufs d'octobre irradiés dès la sortie du frigidaire.

	Hivernation	Témoin	500	1 000	2 000
Temps moyen	124 j	24,57	24,25	25,46	26,13
	141 j	22,32	22,73	23,07	23,89
	160 j	20,20	20,85	21,17	21,94
	210 j	19,25	20,01	21,21	22,00
Mortalité	124 j	18,30	15,75	16,61	20,45
	141 j	14,85	13,37	14,90	20,34
	160 j	15,75	16,66	14,00	20,59
	210 j	15,79	18,94	17,92	21,94

Tableau I7

Variations de la mortalité corrigée et de l'allongement relatif du temps de développement à 2 000 r pour les oeufs de l'expérience consignée dans le tableau I6.

	124	141	160	210
durée de l'hivernation				
mortalité corrigée %	2,63	6,44	5,74	7,30
allongement relatif %	6,34	7,04	8,61	14,29

3) Conclusion

La sensibilité augmente avec l'élimination de la diapause, que l'on prenne comme critère le temps de développement ou la mortalité, et quelle que soit la méthode expérimentale choisie. Cette augmentation parallèle des deux critères montre que la sensibilité propre des embryons augmente.

La diapause paraît être une phase où la radiosensibilité est faible.

C - REPRISE DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE APRES ELIMINATION DE LA DIAPAUSE

I) Résultats

En règle générale, la radiosensibilité d'un embryon varie avec le stade considéré, il en va vraisemblablement de même chez le Ver à soie. Plusieurs expériences l'ont confirmé. Je cite ici à titre d'exemple une expérience réalisée sur des oeufs du deuxième lot d'Alès, ayant eu sept mois d'estivation et six mois d'hivernation. Les résultats sont consignés dans le tableau I8.

Le temps de développement et surtout la mortalité sont affectés de façon très différente suivant le moment où a lieu l'irradiation.

La mortalité à 2 000 r augmente d'abord de façon très significative pour devenir maximale à vingt-quatre heures, elle décroît très rapidement entre le premier et le deuxième jour et après une semaine devient du même ordre que celle des témoins. La mortalité à vingt-quatre heures est huit fois supérieure à celle observée à sept jours.

La mortalité à 1 000 r suit les mêmes variations, d'une manière moins accentuée : le maximum intervient au bout de dix heures seulement, et seule la mortalité correspondante diffère de celle des témoins.

Le temps de développement est soumis à des variations similaires. Le maximum de sensibilité est atteint au bout de dix heures pour les deux doses. On observe ensuite une diminution régulière, moins rapide toutefois que celle qui concerne la mortalité. A 1 000 r en particulier, au bout de vingt-quatre heures la mortalité ne diffère plus de celle des témoins, alors que ce résultat est atteint au bout du septième jour seulement pour le temps de développement.

Le fait que le maximum de sensibilité est observé après dix heures ou après vingt-quatre heures, suivant la dose et le critère considérés, est probablement dû à ce que le maximum vrai se situe entre les deux.

La radiosensibilité varie donc très fortement au cours du développement embryonnaire. Il faut en tenir compte lorsqu'on compare des lots irradiés à des moments différents.

L'allongement relatif du temps de développement est de 13,4% après une heure et de 17,2% après dix heures. Or, au chapitre III, j'ai

signalé que dans la première expérience (où l'irradiation avait lieu au bout de huit à dix heures) cet allongement relatif était de 17,7%, contre 13,4% seulement dans la deuxième expérience (où l'irradiation intervenait dans les deux ou trois premières heures). Cette différence provenait donc seulement du moment où avait lieu l'irradiation.

Tableau I8

Variations de la radiosensibilité des oeufs lorsque l'irradiation a lieu à divers moments du développement embryonnaire, après 196 jours d'hivernation.

Temps d'incubation avant irradiation	Témoin	mortalité		Témoin	temps de développement	
		I 000	2 000		I 000	2 000
I h	8,90	11,71	43,81	14,59	15,43	16,55
10 h	-	15,29	48,65	-	15,65	17,10
24 h	-	10,96	53,96	-	15,31	16,11
2 j	-	10,27	31,65	-	14,86	15,71
4 j	-	8,37	18,22	-	14,59	15,09
7 j	-	5,86	7,64	-	14,37	14,57
p.p.d.s.	-	4,32	6,55	-	0,21	0,25

2) Conclusion

La radiosensibilité varie très fortement avec le développement embryonnaire, que l'on considère le temps de développement ou la mortalité. Le fait que ces deux critères varient de la même façon indique que c'est bien la sensibilité propre qui est modifiée.

On ne peut donc comparer les résultats de deux irradiations que si elles ont été imposées au même stade de développement.

D - CONCLUSION

La radiosensibilité varie énormément suivant le moment du développement embryonnaire où se situe l'irradiation.

Elle est très forte au début du développement, puis diminue assez rapidement pour atteindre un minimum pendant la diapause. On peut penser que ces variations sont liées à celles de l'activité mitotique.

Au fur et à mesure que la diapause s'élimine la sensibilité augmente. Lorsqu'on met en incubation des oeufs dont la diapause est éliminée, la sensibilité croît tout d'abord, pendant un temps plus ou moins long, puis diminue rapidement, pour disparaître, aux doses utilisées, au bout de quatre à sept jours.

On peut relier ces variations à celles du métabolisme ; il est vraisemblable que le cytochrome joue un rôle important. Lors de la mise en incubation, après élimination de la diapause, l'activité ne reprend qu'au bout d'un certain temps (dans la pratique séricicole, on procède à un pré-réchauffement qui amène les oeufs à 22°C en deux ou trois jours).

Cette reprise d'activité se traduit tout d'abord par une synthèse rapide de cytochrome C. Ce corps, très sensible aux radiations, est facilement détruit par leur action, ce d'autant plus que l'on se trouve dans une période de synthèse (PRICE et KLEIN - 55 - ont montré que la chlorophylle, très sensible pendant sa synthèse, était beaucoup moins affectée dans son fonctionnement ultérieur).

Par la suite, le cytochrome C se trouve en quantité plus abondante, à un stade moins sensible, et la radiosensibilité décroît.

La diapause correspond donc à un palier situé entre deux maxima de sensibilité. La diminution intervenant après le premier maximum ne se produit pas si l'installation de la diapause a été empêchée par un traitement à l'acide chlorhydrique. Sur des oeufs sans diapause, on observerait vraisemblablement un maximum de sensibilité dans les toutes premières heures, suivi d'une diminution plus ou moins rapide.

L'existence d'un palier semble due uniquement à la diapause. Celle-ci constitue une phase résistante, sans doute en raison de la très faible activité métabolique, et notamment de l'absence de mécanismes aéro-bies. L'augmentation graduelle de la sensibilité avec l'élimination progressive de la diapause, correspond à la reprise d'une certaine activité métabolique.

C H A P I T R E V : M O D I F I C A T I O N D E L A P H Y S I O L O G I E D E L ' E M B R Y O N

J'ai montré (cf. page 23) qu'on pouvait faire varier l'état physiologique de l'embryon en le soumettant à des durées variables d'hivernation. J'ai employé cette méthode pour étudier les variations de la radiosensibilité en fonction de l'état physiologique.

A - EXPERIENCES EFFECTUEES SUR DES OEUFS DE JUIN 1961

Des oeufs ayant subi des durées d'hivernation (et aussi d'estivation) variables ont été irradiés, soit dès la sortie du frigidaire, soit après quelques heures d'incubation. Les résultats sont consignés dans les tableaux I9 et 20. Dans beaucoup de cas le nombre d'éclosions était trop faible pour permettre un calcul du temps de développement.

I) Oeufs irradiés dès la sortie du frigidaire (tableau I9)

La mortalité augmente très nettement avec le vieillissement, quelle que soit la dose utilisée. Alors que dans les conditions normales, le traitement à 500 r ne fait apparaître aucune mortalité, dans les trois dernières séries il entraîne des différences significatives. La mortalité à 1 000 et 2 000 r devient très forte après 300 jours de froid. Les mortalités corrigées pour ces deux doses sont les suivantes :

hivernation		II7	306	335	327	354
mortalité	1 000	6,24	36,05	33,35	62,49	79,26
corrigée	2 000	19,84	87,17	92,49	98,61	94,34

Par contre, l'allongement du temps de développement sous l'effet des rayons X n'est pas modifié par la durée d'hivernation. Il semblerait même avoir tendance à diminuer pour des durées d'hivernation très longues.

Tableau I9

Variations de la mortalité et du temps de développement avec le vieillissement, pour des oeufs irradiés dès la sortie du frigidaire

	Estivation	Hivernation	Témoin	500	I 000	2 000
	6 mois	II7 j	I4,53	-	I6,I5	I6,92
	6 mois	335 j	I5,I3	I5,4I	I5,87	-
temps moyen	8 mois	327 j	I4,36	I4,84	I5,37	-
	8 mois	354 j	I5,I4	I5,33	-	-
	6 mois	II7 j	I,63	-	7,77	2I,I5
	6 mois	306 j ^x	24,I6	27,49	5I,49	90,25
mortalité	6 mois	335 j	43,23	48,55	63,I6	95,74
	8 mois	327 j	52,68	57,28	82,25	99,34
	8 mois	354 j	76,85	82,42	95,20	98,69

^x Pour cette expérience les temps de développement n'ont pas été calculés.

2) Oeufs irradiés après quelques heures d'incubation (tableau 20)

Ces expériences confirment les précédentes, notamment en ce qui concerne le temps de développement. La mortalité augmente moins vite avec le vieillissement ; le traitement à 500 r ne fait jamais apparaître de différence, quelle que soit la durée d'hivernation. L'augmentation de la mortalité à I 000 r est plus faible que dans le cas précédent. La mortalité corrigée à 2 000 r est donnée ci-dessous :

hivernation	123	214	229	306	335
mortalité corrigée	24,43	65,39	77,83	72,65	90,44

La mortalité est déjà très forte après 2I4 jours de froid, alors que celle des témoins est encore peu appréciable, elle croît ensuite mais moins rapidement. La diminution observée entre 229 et 306 jours d'hivernation n'est pas significative. Elle est sans doute due au fait que, pour l'expérience à 306 jours, le délai entre la mise en incubation et l'irradiation a été plus important.

Tableau 20

Variations de la mortalité et du temps de développement avec le vieillissement, pour des oeufs irradiés après quelques heures d'incubation

	Hivernation	Témoin	500	I 000	2 000
temps moyen	I23 j	I4,07	I4,90	I5,80	I6,56
	2I4 j	I2,87	I3,77	-	I5,39
	229 j	I2,76	I2,9I	-	I5,00
	335 j	I5,I3	I5,43	I5,84	-
mortalité	I23 j	4,I4	2,83	8,20	27,56
	2I4 j	9,44	I6,35	-	68,66
	229 j	I3,99	I4,30	-	80,92
	306 j ^x	27,92	26,58	37,II	80,29
	335 j	43,23	43,70	57,07	94,57

^x Pour cette expérience les temps de développement n'ont pas été calculés. La durée d'estivation est de six mois dans tous les cas.

B - EXPERIENCES REALISEES SUR LES OEUFS DE JUIN I962

Toutes ces séries ont été irradiées dès la sortie du frigidaire. On constate (cf. tableau 2I) comme dans le cas précédent une augmentation de la mortalité avec la durée d'hivernation. Le traitement à 500 r n'entraîne aucune différence ; à I 000 r les différences deviennent significatives à partir de la troisième série ; à 2 000 r elles le sont toujours. Les mortalités corrigées à I 000 et 2 000 r sont les suivantes :

	hivernation	I98	2II	23I	273	3I5
mortalité	I 000	3,09	3,89	I3,36	22,I3	37,26

A 2 000 r la mortalité croît rapidement entre I98 et 23I jours, puis de façon beaucoup plus lente ensuite. A I 000 r la mortalité augmente à partir de 23I jours. Cette augmentation est plus rapide que l'augmentation à 2 000 r pour les mêmes durées d'hivernation.

Tableau 2I

Variations de la mortalité et du temps de développement avec le vieillissement, pour des oeufs irradiés dès la sortie du frigidaire

	Hivernation	Témoin	500	I 000	2 000
temps moyen	I98 j	I4,59	I4,85	I5,43	I6,55
	2II j	I4,68	I4,99	I5,64	I6,9I
	23I j ^x	-	-	-	-
	273 j	I4,6I	I5,I0	I5,68	I6,53
	3I5 j	I5,03	I5,20	I5,45	-
mortalité	I98 j	8,90	8,II	II,7I	43,8I
	2II j	I2,07	I2,22	I5,49	65,26
	23I j ^x	I5,42	IO,65	26,72	78,3I
	273 j	22,33	24,4I	39,52	88,49
	3I5 j	35,40	38,28	59,47	93,62

^x Pour cette expérience les temps de développement n'ont pas été calculés.

Dans la figure VI, j'ai porté en abscisses les mortalités des témoins, et en ordonnées les mortalités correspondant à I 000 et 2 000 r. Je n'ai pas calculé les courbes de régression, le nombre de points étant insuffisant. A I 000 r il semble qu'il s'agisse d'une droite. A 2 000 r il n'est guère possible de conclure. La mortalité des oeufs irradiés augmente avec celle des témoins, d'autant plus rapidement que la dose est plus faible (tout au moins tant que la mortalité est inférieure à 90%).

Comme pour les oeufs du lot précédent, on constate que le temps de développement dépend seulement de la dose et non de la durée d'hivernation. Pour la dernière série, il paraît même avoir diminué : on peut remarquer que le temps de développement à I 000 r ne varie pas, alors que celui des témoins augmente.

C - INTERPRETATION

Lorsque la durée d'hivernation augmente, la mortalité des témoins fait de même. La mortalité des irradiés croît elle aussi, ce d'autant plus

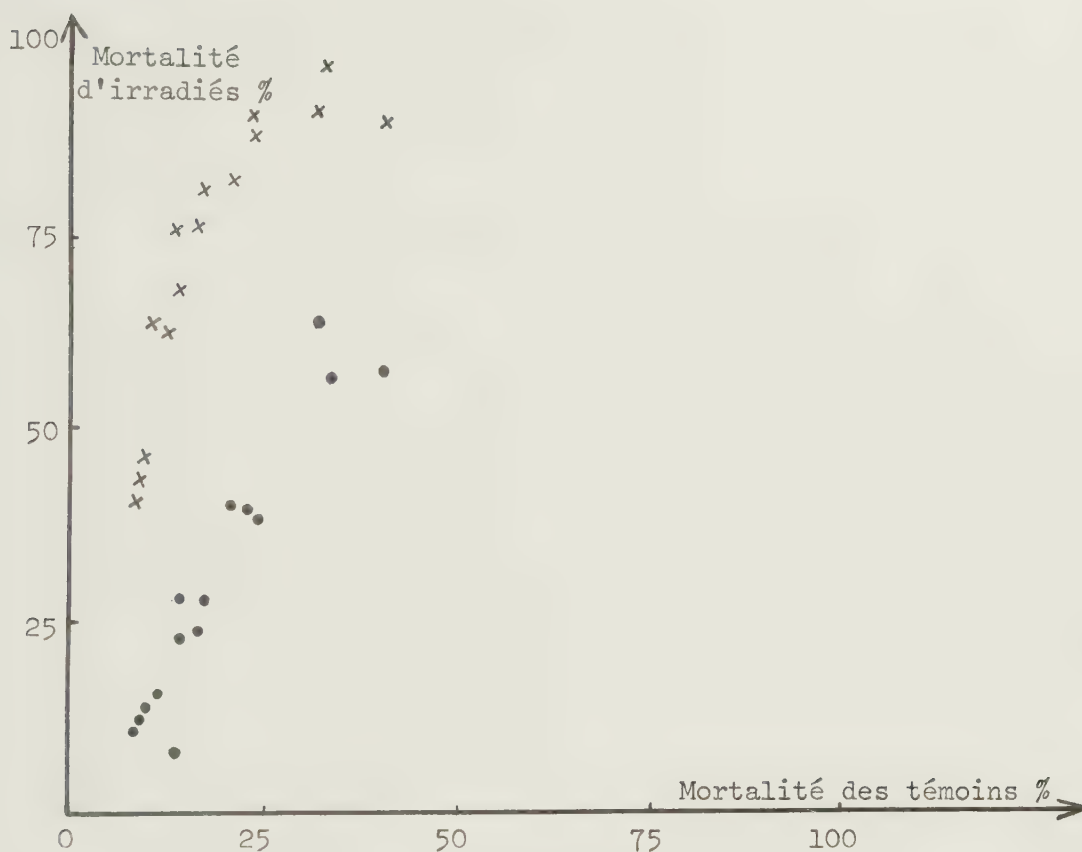


Figure VI

Variations de la mortalité à 1.000 r (●) et 2.000 r (x)
en fonction de la mortalité des témoins.

rapidement que la dose est plus élevée. Le temps de développement ne paraît pas être sensiblement affecté par le vieillissement.

Ces phénomènes s'interprètent aisément si l'on admet que la radiosensibilité propre des embryons ne varie pas au cours du vieillissement, l'augmentation de la mortalité étant simplement due à une diminution des facultés de restauration. Il existe un seuil au-delà duquel la restauration est insuffisante pour permettre l'éclosion. Ce seuil doit diminuer quand les oeufs vieillissent et la dose qui entraînerait une mortalité négligeable dans les conditions normales peut, lorsque le vieillissement est suffisant, provoquer la mort de tous les individus irradiés.

Comme la sensibilité propre ne varie pas, l'allongement relatif du temps de développement pour une dose déterminée reste constant. La diminution apparente constatée pour les dernières séries est sans doute due à une sélection d'individus plus résistants. En effet, cette diminution pro-

vient essentiellement du fait que le temps de développement des témoins augmente, celui des irradiés restant le même. Cette augmentation est liée à un affaiblissement des embryons, on peut penser que l'irradiation élimine les plus affaiblis (ce phénomène intervient à un moment où la mortalité est élevée), et de ce fait le temps moyen de développement des oeufs irradiés n'augmente pas, contrairement à celui des témoins.

Si cette interprétation est correcte, la mortalité des oeufs ne doit pas dépendre du moment où a lieu l'irradiation, mais de la durée totale d'hivernation (il est question dans ce chapitre d'oeufs dont la diapause est totalement éliminée). En effet, il n'y a pas de restauration pendant le séjour au froid, et les pertes des facultés de restauration sont liées uniquement au vieillissement, c'est-à-dire à la durée d'hivernation. Pour le vérifier j'ai réalisé les expériences rapportées dans le paragraphe suivant.

D - ACTION DU FROID APRES IRRADIATION

Dans un premier essai, j'ai pris des oeufs dont la diapause était éliminée et les ai remis au froid, aussitôt après l'irradiation, pour une durée de quarante-huit heures. Une série irradiée dans les mêmes conditions mais n'ayant pas été soumise au froid servait de témoin. Les résultats figurent dans le tableau 22.

Non seulement l'action du froid après irradiation n'apporte aucune protection, mais encore elle est quelque peu défavorable, tant pour la mortalité que pour la durée de développement. D'autres observations ont confirmé cette action légèrement défavorable du froid. Elle est probablement liée à l'impossibilité d'une restauration immédiate.

Dans un deuxième temps, j'ai irradié des oeufs déjà quelque peu vieillis et les ai divisés ensuite en trois séries : une série mise en incubation aussitôt, deux séries remises immédiatement à basse température.

Chacune de ces deux séries a été mise en incubation en même temps que des oeufs du même lot, irradiés dès la sortie du frigidaire, après des durées croissantes d'hivernation. Le schéma expérimental et les résultats sont représentés page 82.

Tableau 22
Action du froid après irradiation

	Témoin	1 000	2 000	
Irradiation suivie	2,59	6,47	24,36	mortalité
de 48 heures au froid	14,35	15,68	17,02	temps moyen
Irradiation au début	2,71	7,05	21,98	mortalité
de 1' incubation	14,60	15,38	16,36	temps moyen

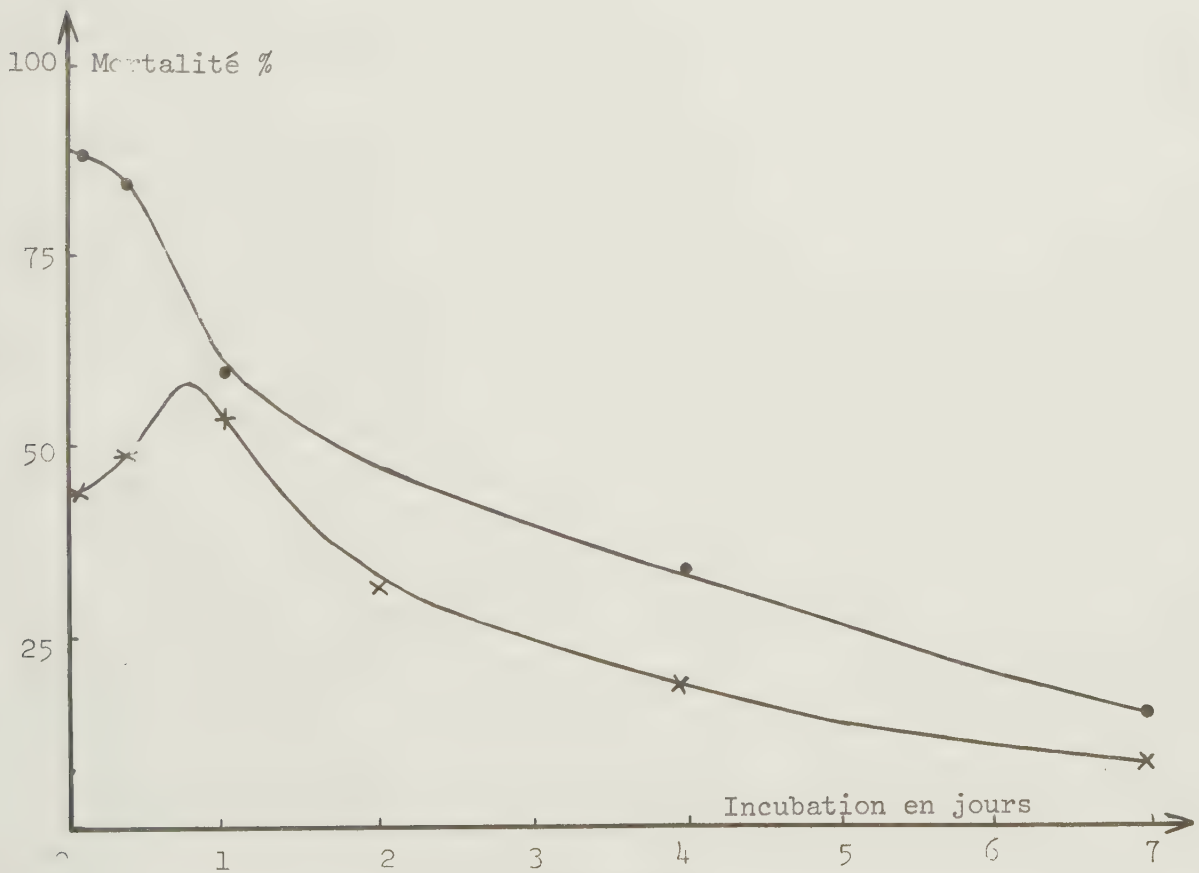


Figure VII

Variations de la mortalité pour des oeufs irradiés à 2.000 r
après 196 jours (x) et 275 jours d'hivernation' (•).

hivernation (en jours)	avant irradiation	23I	23I	23I	273	3I5
	après irradiation	0	42	84	0	0
	totale	23I	273	3I5	273	3I5
mortalité corrigée	I 000 r	13,36	24,92	46,75	22,13	37,26
	2 000 r	73,88	86,10	93,07	85,18	90,12

Je n'ai pas figuré les variations du temps de développement, ce phénomène n'étant pratiquement pas modifié par le vieillissement.

On voit que la mortalité corrigée dépend uniquement de la durée totale du séjour au froid. Pour une hivernation égale, les oeufs remis au frigidaire après irradiation sont un peu plus atteints que les oeufs n'ayant pas été soumis au froid après le traitement.

Cette expérience confirme l'hypothèse émise au paragraphe précédent, à savoir que l'augmentation de la mortalité avec l'hivernation est due uniquement à une perte progressive des facultés de restauration, et non à une augmentation de la sensibilité propre. Elle montre par ailleurs que l'irradiation n'accentue pratiquement pas le vieillissement.

E - CONCLUSION

Lorsqu'on soumet des oeufs, dont la diapause a été éliminée, à des durées croissantes d'hivernation, on constate que la mortalité des témoins augmente. Pour une dose donnée, la mortalité corrigée des oeufs traités croît d'autant plus rapidement que la dose est plus élevée. Par contre, l'allongement relatif du temps de développement n'est pas affecté par le vieillissement, il paraît même diminuer lorsque la durée de développement des témoins augmente.

La mortalité ne dépend pas du moment où a lieu l'irradiation, mais de la durée totale du séjour au frigidaire.

On peut interpréter ces variations en admettant que la radiosensibilité propre ne varie pas, l'augmentation de la mortalité provenant d'une diminution des facultés de restauration.

C H A P I T R E VI : MODIFICATIONS SIMULTANÉES

DES CONDITIONS D'IRRADIATION ET DES CONDITIONS PHYSIOLOGIQUES

Dans le chapitre IV, j'ai fait varier le moment de l'irradiation au cours du développement embryonnaire ; dans le chapitre V, j'ai fait varier l'état physiologique de l'embryon en jouant sur la durée d'hivernation. Ces deux types de variations entraînent des modifications importantes de la radiosensibilité. Il est intéressant de faire varier simultanément ces deux facteurs, et de suivre les variations correspondantes de la sensibilité.

A - EXPERIENCES EFFECTUEES SUR DES OEUFs DE JUIN 1962

J'ai étudié (page 72) les variations de sensibilité en fonction du temps d'incubation avant irradiation, pour des oeufs ayant eu six mois d'hivernation. J'ai refait la même expérience avec des oeufs ayant subi neuf mois d'hivernation. Les résultats sont consignés dans le tableau 23.

Dans ces deux expériences, la mortalité et la durée de développement varient quand augmente le temps d'incubation avant irradiation, c'est-à-dire l'âge de l'embryon. Il existe toutefois une différence importante. Dans la deuxième expérience, les valeurs correspondant à la sensibilité maximale sont obtenues pour l'irradiation effectuée dès la sortie du frigidaire. Le maximum de sensibilité se situe donc dans les toutes premières heures, alors que dans l'expérience précédente il semblait intervenir entre la quinzième et la vingtième heure (cf. fig. VII, p. 81).

Si on compare la mortalité à 2 000 r, après six mois et neuf mois d'hivernation, on constate qu'elle varie du simple au double pour les irradiations effectuées dès la sortie du frigidaire, alors qu'elle est du même ordre pour les irradiations effectuées après vingt-quatre heures d'incubation.

Tableau 23

Variations de la radiosensibilité des oeufs lorsque l'irradiation a lieu à divers moments du développement embryonnaire, après 275 jours d'hivernation.

Temps d'incubation avant irradiation	Témoin	I 000	2 000	Témoin	I 000	2 000
		mortalité			temps de développement	
I h	22,33	39,52	88,49	14,61	15,68	16,53
9 h	-	35,74	85,12	-	15,54	-
24 h	-	25,46	59,68	-	14,98	16,20
4 j	-	20,27	34,19	-	14,86	15,22
7 j	-	13,93	14,11	-	14,78	14,83
p.p.d.s.	-	11,00	6,00	-	0,21	0,28

L' allongement relatif du temps de développement reste pratiquement le même dans les deux cas, il est simplement décalé en raison du déplacement du maximum de sensibilité, mais n'est pas affecté par la durée d'hivernation.

B - EXPERIENCES EFFECTUEES SUR DES OEUFs DE JUIN 1961

Dans le tableau 24, je donne les variations de la mortalité corrigée à 2 000 r, en fonction du stade de développement embryonnaire et de la durée d'hivernation. Bien que très incomplet, ce tableau n'en confirme pas moins les observations précédentes.

La mortalité décroît avec l'âge de l'embryon (mesuré par la durée d'incubation avant irradiation), et cette décroissance varie elle-même avec la durée d'hivernation.

Pour une hivernation de trois mois, la mortalité est pratiquement la même, que le traitement ait lieu après sept heures ou sept jours. Quand l'hivernation atteint quatre mois, la mortalité, qui n'avait pas varié entre le premier et le cinquième jour, tombe à zéro le septième. Le même résultat est obtenu dès le quatrième ou cinquième jour lorsque l'hivernation est de sept à huit mois.

Tableau 24

Variations de la mortalité corrigée à 2 000 r
avec le développement embryonnaire et la durée d'hivernation.

Hivernation

	I h	8 h	I j	3 j	4 j	5 j	7 j
96 j	-	14,00	-	-	-	-	11,75
123 j	-	24,93	-	-	-	23,06	0 ^{xx}
214 j	-	65,46	46,17	-	-	8,85	3,82
229 j	-	77,93	49,76	37,62	8,86	1,62	5,88
335 j	92,49	90,43	59,86	-	-	-	-
327 j ^x	98,60	-	56,70	-	41,02	-	-

^x Ce lot a subi huit mois d'estivation, les autres six mois seulement.

^{xx} La mortalité est légèrement inférieure à celle des témoins.

Pour la dernière série, la diminution de mortalité dans les premières vingt-quatre heures est spectaculaire (43%), par contre, elle baisse beaucoup moins ensuite et reste élevée le quatrième jour.

La comparaison entre les irradiations effectuées après huit heures d'incubation fait apparaître une augmentation régulière et très importante de la mortalité avec l'hivernation. La même comparaison entre les irradiations intervenant après vingt-quatre heures d'incubation, montre une augmentation beaucoup plus faible. Après cinq jours, on constate même une diminution.

Je n'ai pas rapporté ici les variations de l'allongement relatif du temps de développement. En effet, pour les séries présentant une mortalité élevée, il ne peut être calculé. Ces variations ne présentent d'ailleurs pas d'intérêt particulier et confirment simplement les expériences précédentes.

C - INTERPRETATION

J'ai interprété l'augmentation de la mortalité avec le vieillissement, en admettant qu'elle dépendait uniquement d'une perte des facultés

de restauration, et non d'une variation de la radiosensibilité propre. Par ailleurs, j'ai admis que les variations de radiosensibilité avec le développement embryonnaire étaient liées essentiellement aux variations de l'activité morphogénétique. Je vais tenter de relier ces dernières variations au vieillissement.

Une fois la diapause éliminée, l'embryogénèse reprend lorsque les oeufs sont mis en incubation. Si on laisse les oeufs à basse température, cette embryogénèse est très fortement inhibée, mais n'est pas nulle. Lorsque la durée d'hivernation est très longue, certaines réactions, parmi lesquelles se situe peut-être la synthèse des cytochromes, ont lieu à basse température. De ce fait, lors de la mise en incubation, la reprise d'activité doit être plus rapide. Il est donc vraisemblable que, lorsque la durée d'hivernation augmente, la reprise d'activité a lieu de plus en plus tôt.

Certaines observations semblent cependant infirmer cette hypothèse. En effet, lorsque la durée d'hivernation devient très importante, le temps de développement des témoins augmente, alors qu'il devrait diminuer d'après l'hypothèse. Cette contradiction est sans doute plus apparente que réelle. On peut considérer que le temps de développement pour des oeufs vieux est sous la dépendance de deux facteurs opposés : d'une part, un certain développement a lieu à basse température et tend à réduire la durée de développement à température normale, d'autre part, l'embryon s'affaiblit en vieillissant, ce qui entraîne un allongement de la durée totale de développement. Pour des durées d'hivernation moyennes, ces deux phénomènes s'équilibrent ; lorsque le temps d'hivernation devient plus important (supérieur à dix mois), le deuxième facteur devient prépondérant et la durée de développement augmente.

L'hypothèse concernant les variations de la reprise d'activité morphogénétique avec la durée d'hivernation reste donc acceptable. Le déplacement du maximum de radiosensibilité peut s'expliquer ainsi.

D - CONCLUSION

La mortalité des oeufs de Ver à soie sous l'action des rayons X varie avec le stade du développement embryonnaire d'une part, avec la durée d'hivernation d'autre part. Lorsqu'on fait varier simultanément ces deux

phénomènes, on constate qu'il y a une forte interaction. L'augmentation de la mortalité avec le vieillissement dépend du moment où a lieu l'irradiation ; les variations de la mortalité avec le développement embryonnaire dépendent de la durée d'hivernation. On peut interpréter ces résultats en admettant que les variations d'activité au cours de l'embryogénèse sont elles-mêmes liées au vieillissement.

Deux remarques s'imposent :

Le stade de développement embryonnaire ne peut pas être défini par la seule durée d'incubation, en effet, il ne varie pas de la même manière en fonction du temps pour des oeufs ayant eu des durées d'hivernation différentes.

On ne peut pas comparer les variations de radiosensibilité des oeufs en fonction de l'hivernation, en comparant uniquement les résultats d'irradiations effectuées après un temps donné d'incubation.

Ces remarques remettent en question certains des résultats précédemment obtenus. Elles seront reprises dans les conclusions générales.

TROISIEME PARTIE

CONCLUSIONS GENERALES

CHAPITRE I : DISCUSSION DES RESULTATS

A - RAPPEL DES RESULTATS OBTENUS

- Tant que la diapause n' est pas totalement éliminée, le froid a un effet favorable sur les oeufs, ce qui se traduit par une diminution de la mortalité d' abord, du temps de développement ensuite, pour des durées croissantes d'hivernation.

Une fois la diapause éliminée, le froid a un effet défavorable, et si l' on prolonge le séjour à basse température la mortalité augmente, lentement tout d'abord, puis de façon très rapide après dix mois. Le temps de développement augmente lui aussi lorsque la durée d'hivernation est supérieure à dix mois.

- Lorsqu' on irradie des oeufs dans les conditions normales (diapause bien éliminée, irradiation dans les premières heures de l' incubation), le temps moyen de développement et la mortalité varient proportionnellement au logarithme des doses. Le temps de développement est plus sensible aux doses faibles, mais augmente ensuite beaucoup moins vite que la mortalité.

L' action des rayons X sur la forme des courbes d'éclosion se traduit par un étalement et par une réduction de la dissymétrie.

- Lorsqu' on modifie les conditions normales, en faisant varier le stade du développement embryonnaire où a lieu l' irradiation, on

observe des variations de radiosensibilité affectant la mortalité et le temps de développement.

La sensibilité, très forte au début du développement, diminue rapidement pour devenir très faible pendant la diapause. Lors de la reprise de l'embryogénèse, après élimination de la diapause, la sensibilité croît pendant un certain temps, passe par un maximum, puis diminue plus ou moins rapidement pour disparaître totalement aux doses utilisées.

Si l'on irradie des oeufs pendant la diapause, on constate qu'au-delà d'une certaine durée d'hivernation, la sensibilité, tout d'abord très faible, augmente graduellement au fur et à mesure que la diapause s'élimine.

Un traitement à l'acide chlorhydrique, prévenant l'installation de la diapause, montre que la sensibilité est très forte pour des oeufs âgés de trois à six jours, alors qu'aux mêmes doses et au même âge, cette sensibilité est nulle si la diapause est installée.

- On peut modifier les conditions normales, en faisant varier non plus le stade de développement mais la durée d'hivernation.

Lorsque la durée d'hivernation augmente (une fois la diapause éliminée), la mortalité croît, de façon plus ou moins rapide, suivant la dose utilisée. Une régression met en évidence l'existence d'une liaison entre la mortalité des témoins et celle des irradiés.

Par contre, l'allongement relatif du temps de développement pour une dose donnée n'est pas affecté par le vieillissement ; il semble même diminuer pour des durées d'hivernation importantes.

Une série expérimentale montre que l'augmentation de la mortalité avec la durée d'hivernation est indépendante du moment où intervient l'irradiation, et dépend seulement de la durée totale du séjour au froid.

Des expériences préliminaires avaient permis de rejeter l'hypothèse d'une action protectrice du froid appliqué après irradiation, celui-ci ayant un effet légèrement défavorable.

- En agissant simultanément sur le stade de développement et la durée d'hivernation, on met en évidence une interaction de ces deux phénomènes sur les variations de la radiosensibilité.

D'une part, l'augmentation de la mortalité avec la durée d'hivernation dépend du stade de développement considéré, d'autre part,

les variations de la mortalité avec le stade de développement sont elles-mêmes liées à la durée d'hivernation préalable.

B - VALIDITE DES RESULTATS OBTENUS

Bien que mes expériences aient manqué de précision, en raison surtout du matériel d'irradiation utilisé, les variations de radiosensibilité constatées, en fonction des doses et des autres facteurs employés, sont suffisamment nettes pour éviter toute confusion. Je pense donc qu'il n'y a pas lieu de contester les résultats obtenus dans les conditions normales d'irradiation. Par contre, on peut se montrer plus réticent en ce qui concerne les variations de radiosensibilité, avec le stade de développement embryonnaire d'une part, avec la durée d'hivernation d'autre part. En effet, les expériences citées au dernier chapitre mettent en évidence une interaction entre l'influence du stade de développement et celle de la durée d'hivernation, interaction dont je n'avais pu tenir compte dans les chapitres précédents.

Pour définir la sensibilité d'une série d'oeufs, on ne peut se contenter de la mesurer après un temps donné d'incubation. En effet, ce temps d'incubation correspond à des stades de développement différents, suivant que l'on considère des oeufs vieillis au froid, ou des oeufs dont la diapause n'est pas totalement éliminée.

On peut caractériser la sensibilité d'une série par la courbe des variations de cette sensibilité (mesurée par le temps de développement et la mortalité) en fonction du stade de développement. Cette courbe est définie suffisamment par quatre valeurs qui sont :

- la sensibilité à la sortie du frigidaire,
- la sensibilité maximale,
- la durée d'incubation pour laquelle la sensibilité est maximale,
- la durée d'incubation pour laquelle la sensibilité disparaît, le cas échéant, à la dose considérée.

Je vais maintenant discuter la validité de mes résultats à l'aide des considérations précédentes.

Remarque : Pour effectuer une étude très poussée, il faudrait suivre sur

des séries témoins, le développement embryonnaire des oeufs, de façon à relier la radiosensibilité à ce développement. Ce travail serait très long et demanderait un matériel biologique important.

I) Variations de la radiosensibilité avec le développement embryonnaire

La grande sensibilité des oeufs fraîchement pondus, confirmée par celle des oeufs traités à l'acide chlorhydrique, me paraît indubitable, de même que la diminution de cette sensibilité lorsqu'on se rapproche du moment où s'installe la diapause.

Pareillement, la diminution de sensibilité des embryons, avec la durée de l'incubation lors de la reprise du développement après la diapause, paraît bien établie. En ce qui concerne la mortalité, elle vient d'ailleurs d'être confirmée par des chercheurs américains (57). Ces derniers irradient des oeufs de Bombyx mori avec des rayonnements gamma (Cobalt 60, 320 r/mn) les premier, quatrième et septième jours du développement embryonnaire (ces oeufs sont incubés à 27°C). Les DL 50 sont respectivement de 1 528, 3 565 et 24 840 r. L'existence d'une augmentation de sensibilité dans les premières heures de l'incubation (que les auteurs cités ne pouvaient mettre en évidence avec leur méthode expérimentale) est plus discutable. Elle est cependant très nette dans l'expérience citée (page 73) et m'a été confirmée par des observations plus fragmentaires.

Les variations pendant la diapause ont été étudiées à l'aide de deux méthodes qui présentent certains défauts. On pouvait craindre que l'action du froid après irradiation ait un effet protecteur et soit responsable des variations de sensibilité observées. J'ai montré qu'il n'en était rien, l'action du froid étant plutôt défavorable.

Avec la deuxième méthode, on mesure la sensibilité peu de temps après la sortie du frigidaire, c'est-à-dire à un moment où la sensibilité n'est probablement pas maximale. Il se pourrait donc que la sensibilité maximale réelle soit la même dans tous les cas, les variations observées étant simplement liées au stade de développement embryonnaire où interviennent les radiations. S'il en est ainsi, l'action protectrice de la diapause se trouve tout aussi bien confirmée. Lorsqu'on met en incubation des oeufs ayant eu une durée d'hivernation insuffisante, ils présentent un certain reste de diapause, qui doit s'éliminer à 22°C (au lieu de s'éliminer à

basse température) pour que puisse reprendre un développement embryonnaire normal. Il revient alors au même, pour étudier l'influence de la diapause, d'irradier des oeufs à divers moments de l'incubation après une faible durée d'hivernation, ou de les irradier après diverses durées d'hivernation. Dans les deux cas, on irradie des oeufs dont la diapause est de plus en plus éliminée. Cependant, quand on opère pendant l'incubation, la variabilité doit être beaucoup plus importante, l'élimination de la diapause étant moins rapide à 22°C qu'à 3°C.

La concordance des résultats obtenus avec les deux méthodes permet de conclure à une action protectrice de la diapause, cette protection diminuant au fur et à mesure que la diapause s'élimine.

2) Variations de la radiosensibilité avec le vieillissement

Suivant le moment de l'incubation où a lieu le traitement, l'augmentation de la mortalité avec le vieillissement est très variable (cf. page 83), et on peut se demander si cette augmentation intervient réellement. Bien que le maximum n'ait pas été déterminé pour toutes les expériences, on peut considérer qu'il augmente avec la dose. Cet accroissement est manifeste pour les deux séries expérimentales réalisées après I96 et 273 jours d'hivernation dans le lot de juin I962, il l'est aussi pour les séries réalisées après 214, 229, 335 et 327 jours d'hivernation dans le lot de juin I96I.

On peut penser que l'augmentation de la sensibilité avec le vieillissement ne fait que continuer celle observée avec le degré d'élimination de la diapause. Il serait alors arbitraire de séparer ces deux phénomènes. En réalité, il y a une différence fondamentale : pendant la diapause, le temps de développement et la mortalité varient parallèlement, pendant le vieillissement, seule la mortalité augmente, le temps de développement n'étant pas affecté. Il y a donc bien deux phénomènes distincts. Il existe une autre confirmation de cette dualité. Lorsqu'on irradie des oeufs à divers moments de leur séjour au froid et qu'on les met en incubation tous en même temps, on observe de nettes variations de sensibilité si l'on a opéré avant élimination de la diapause, alors qu'on obtient une sensibilité identique si l'on a opéré pendant le vieillissement.

En conclusion, je dirai que les résultats obtenus peuvent être

considérés comme valables, en particulier la distinction faite entre l'effet du froid avant et après élimination de la diapause est tout à fait fondée. Toutefois ces résultats sont fort incomplets, et dans les tableaux dressés aux chapitres V et VI bien des cases restent vides.

C H A P I T R E I I : I N T E R P R E T A T I O N

Tout au long de la deuxième partie, j'ai interprété les résultats en faisant appel d'une part aux conclusions dégagées à la suite de l'étude des radiations ionisantes, d'autre part aux variations physiologiques de l'oeuf de Ver à soie. Je vais rappeler brièvement les premières et m'étendre un peu plus sur la physiologie de l'oeuf.

A - ACTION DES RADIATIONS IONISANTES

La radiosensibilité observée dépend d'une part, de la radiosensibilité vraie, d'autre part, de la restauration.

La radiosensibilité vraie est fortement liée au rythme d'activité notamment à celui de l'activité respiratoire intracellulaire. A l'origine cette action pourrait s'exercer au niveau des cytochromes.

La restauration, pour un embryon, se définit comme une tendance à atteindre l'état où se trouverait l'embryon s'il n'avait pas été irradié, et non comme une tendance à retrouver l'état initial. L'introduction de cette notion permet de relier l'augmentation du temps de développement embryonnaire à la restauration. Cette dernière dépend étroitement de l'état physiologique.

B - VARIATION DE L'ETAT PHYSIOLOGIQUE DE L'OEUF DE BOMBYX MORI

Après s'être divisé activement, jusqu'au stade bandelette germinative, l'embryon cesse pratiquement toute activité pendant la durée de la

diapause. Cet état se manifeste par une inversion de l'optimum de température et un passage à un métabolisme de type anaérobie. La diapause s'élimine graduellement au froid, avec un retour progressif à un métabolisme aérobie et à un optimum de température normal. La notion de rupture de diapause est incorrecte et ne correspond à aucune réalité. La mise en incubation a pour seul effet de permettre la reprise de l'embryogénèse, inhibée par la basse température, elle n'influe en rien sur la diapause.

Lorsque l'embryon est remis en incubation après l'hivernation, la morphogénèse ne reprend pas immédiatement, il y a une phase d'initiation de développement (30 et 56). Seule cette phase est sous la dépendance des conditions d'élimination de la diapause, la durée de développement embryonnaire proprement dite n'étant pas modifiée. La présence de cette phase explique la diminution du temps de développement apparent avec l'élimination de la diapause, et confirme ce que j'avais admis, à savoir que l'embryogénèse reprend seulement une fois que la diapause est totalement éliminée.

Cette phase correspond à des modifications physiologiques, nécessaires à la reprise de l'activité morphogénétique. On peut penser notamment qu'intervient alors la synthèse des cytochromes, ce d'autant plus que le rythme respiratoire augmente fortement avant la reprise des mitoses. La durée de l'initiation est vraisemblablement beaucoup moins longue chez Bombyx mori que chez Locusta migratoria, étudié par LE BERRE, où la diapause intervient à un stade plus avancé. Lorsque les oeufs sont maintenus au froid après élimination de la diapause, la phase d'initiation commence vraisemblablement à s'accomplir à basse température, mais d'une manière très lente. La phase d'initiation à la température d'incubation sera d'autant plus réduite que l'hivernation préalable aura été plus importante.

LE BERRE, toujours sur Locusta migratoria, a constaté des anomalies de structure et de différenciation, lorsqu'il prolongeait exagérément l'arrêt de développement en maintenant les oeufs à 8°C. Ces modifications peuvent être assez importantes pour empêcher une morphogénèse normale et entraîner la mortalité.

On pourrait interpréter ainsi le vieillissement des oeufs de Ver à soie. Toutefois, une telle interprétation ne me paraît pas satisfaisante. La température d'hivernation de l'oeuf de Ver à soie est plus faible, tout au moins dans mes expériences (2 à 3°C), ce qui diminue la vitesse de réaction. Par ailleurs, les modifications observées par LE BERRE

affectent des structures déjà différenciées, telles que tissus nerveux ou ganglionnaires, qui n'existent pas au stade bandelette germinative.

L'apparition de la mortalité est due à une modification du vitellus et à une perte de vigueur de l'embryon. Cette perte de vigueur pourrait être, entre autres, une diminution des capacités de multiplication des cellules de la bandelette germinative. Le temps de développement est sous la dépendance de deux facteurs opposés qui sont d'une part, la diminution de la durée de la phase d'initiation, d'autre part, l'augmentation du temps de développement embryonnaire proprement dit par suite de la perte de vigueur de l'embryon. - La diminution de vigueur de l'embryon interviendrait donc dès le début du vieillissement et non à un stade plus tardif comme je l'avais cru tout d'abord - . Pendant un certain temps, ces deux phénomènes s'équilibrent puis l'allongement du temps de développement embryonnaire proprement dit l'emporte (peut-être à partir du moment où toute la phase d'initiation a eu lieu à basse température).

C - INTERPRETATION DES VARIATIONS DE RADIOSENSIBILITE

Je reprendrai ici simplement les variations, avec l'élimination de la diapause et le développement embryonnaire d'une part, avec le vieillissement d'autre part.

La présence d'un maximum de sensibilité, intervenant un peu après la mise en incubation, est sans doute due à la présence de la phase d'initiation. Le maximum correspondrait à la fin de cette phase et au début de la suivante, vraisemblablement à un moment où la synthèse des cytochromes est très active pour permettre la reprise d'activité mitotique. Les cellules se différencient rapidement et se divisent alors moins activement, devenant de ce fait moins sensibles.

Le maximum est d'autant plus proche du début de la mise en incubation que l'hivernation a été plus longue. La durée de la phase d'initiation diminue elle aussi avec l'hivernation, que la diapause ait été éliminée ou non. Ces variations confirment l'hypothèse reliant le maximum de sensibilité à la phase d'initiation.

Quand on irradie des oeufs dont la diapause est en voie d'élimination, quelle que soit la méthode utilisée, la radiosensibilité augmente

graduellement. Les oeufs en diapause sont peu sensibles aux rayonnements, en raison de la très faible activité métabolique, et sans doute aussi de l'absence des cytochromes. Il est possible que le glycérol soit également un radioprotecteur. Tant que la diapause n'est pas totalement éliminée, la phase d'initiation correspond tout d'abord à l'élimination à 22°C du reste de diapause et ensuite aux modifications physiologiques normales. Les oeufs irradiés au début de cette phase sont donc irradiés en réalité pendant la diapause. Ce reste de diapause diminue avec l'hivernation pour chaque oeuf pris isolément, par ailleurs, la proportion d'oeufs pour lesquels il a totalement disparu augmente elle aussi : on rentre donc de plus en plus dans la phase d'initiation proprement dite et la sensibilité croît.

Les variations de sensibilité au cours du développement peuvent donc s'interpréter par les variations de l'activité. Le temps de développement et la mortalité variant de la même manière, c'est bien la sensibilité propre qui est en cause. Il est vraisemblable que le pouvoir de restauration ne varie pas durant cette période.

Lorsque des oeufs vieillissent au frigidaire, la mortalité augmente très rapidement sous l'effet des irradiations, par contre le temps de développement n'est pas affecté.

J'ai indiqué (page I2) qu'il existait un seuil au-dessus duquel la restauration n'était plus possible. On peut penser que ce seuil intervient pour une dose de plus en plus faible au fur et à mesure que les oeufs vieillissent. La proportion d'oeufs ayant atteint ce seuil pour une dose donnée augmente avec la durée de l'hivernation, la mortalité augmente donc. Les oeufs qui ne sont pas tués présentent le même degré d'inhibition, quel que soit leur âge, et de ce fait le temps de développement reste le même pour une dose déterminée quelle que soit la durée d'hivernation. Le fait que la dose seuil diminue correspond à un affaiblissement de l'embryon : le stress lui-même est ressenti de la même façon, mais la faculté de réaction de l'embryon diminue.

Certains auteurs interprètent cette diminution de la résistance à un stress à l'aide du concept de vitalité. La vitalité, qui se définit à l'aide de paramètres variables suivant les organismes considérés (notamment par le pouvoir reproducteur), est le plus souvent caractérisée par la capacité de résistance à un stress. STREHLER (53) a utilisé récemment

ce concept pour tenter de rendre compte, à l'aide de modèles mathématiques, de l'influence des radiations ionisantes sur le vieillissement et réciproquement.

La vitalité diminue avec le vieillissement, ce qui se traduit par une augmentation du taux de mortalité. On constate effectivement que la résistance aux maladies, et de façon plus générale à un stress quelconque, diminue avec le vieillissement. Il semble bien que cette diminution soit due essentiellement à une perte progressive des capacités de réaction de l'organisme.

Si on applique ce concept aux embryons soumis à des durées d'hivernation de plus en plus élevées, on trouve une relation entre l'augmentation de mortalité des témoins et celle des oeufs irradiés, les deux étant proportionnelles à la perte de vitalité. Or, une régression (figure VI) a montré qu'il existait bien une telle relation. Ce concept relie également l'augmentation de la mortalité à la diminution des facultés de restauration, conclusion à laquelle on aboutit cette fois-ci sans faire appel aux variations du temps de développement.

D - CONCLUSION

Les notions de radiosensibilité introduites dans la bibliographie permettent d'interpréter de façon satisfaisante les résultats observés. En particulier, la définition dynamique de la restauration qui permet de relier le temps de développement à la radiosensibilité vraie, s'avère très intéressante.

Il y a cependant des lacunes très importantes dans ce travail, en particulier dans la physiologie de l'oeuf de Ver à soie. Il aurait fallu effectuer une étude histologique et biochimique du développement embryonnaire en fonction de la durée d'hivernation. Une telle étude aurait demandé beaucoup de matériel et un travail trop important pour entrer dans le cadre de ces recherches. J'ai également signalé la nécessité d'une étude des variations de radiosensibilité au cours du développement sur des oeufs sans diapause. Enfin, il faudrait approfondir les phénomènes de résistance liés à la diapause en utilisant entre autres une gamme de doses beaucoup plus importante.

Cet exposé permet cependant de dégager un certain nombre de conclusions.

- La mortalité à une même dose peut pratiquement passer de 0 à 100%, tant au cours du développement embryonnaire proprement dit qu'au cours du vieillissement au froid. Dans le premier cas, cette variation est liée aux changements de sensibilité vraie, dans le deuxième cas uniquement à la diminution des facultés de restauration. Ce dernier facteur a donc une très grande importance pour la résistance aux radiations.

- Le coefficient de protection obtenu par l'anoxie ou les meilleurs radioprotecteurs chimiques, est de 2,5. Il est bien inférieur aux variations liées à l'état physiologique qui joue donc un rôle capital.

- La notion de dose faible est une notion très relative même pour un individu déterminé.

- Seule une étude poussée de la physiologie des témoins permet une expérimentation et une interprétation correctes. Elle permet entre autres de choisir les critères les plus intéressants, ce choix revêtant une très grande importance pour l'étude de la radiosensibilité.

Ces remarques s'appliquent d'autant plus que l'on opère à des doses plus faibles. En particulier, on ne pourra tirer de renseignements valables d'une irradiation à dose faible, administrée de façon chronique ou continue, qu'après avoir étudié d'une façon très précise non seulement la physiologie du matériel biologique, mais aussi les variations de radiosensibilité à dose forte ou moyenne présentées par ce même matériel en fonction de l'état physiologique.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) ORD (M.G.) et STOCKEN (L.A.) - 1958 - Radiobiochemical lesion in animal cells. Nature, 182, 1787-1788.
- (2) ROTHE (E.W.), GRENNAN (M.M.) et WILSON (S.M.) - 1962 - Radioprotection of mice by hypoxia and chemical agents. Nature, 198, 403.
- (3) ASHWOOD-SMITH (M.J.) et LEONG (G.F.) - 1963 - Protective effects of deep-body hypothermia on X-ray induced mitotic aberrations of regenerating rat liver. Nature, 200, 46-48.
- (4) ROSSI (M.) - 1961 - Una nuova ipotesi dell' azione biologica delle radiazioni ionizzanti. Riv. Med. Aeronaut. Spaz. Ital., 24, 586-620.
- (5) METCALF (W.K.) - 1963 - Experimental oxidation of haemoglobin : effect of repeated whole body gamma radiation in rats. Nature, 197, 709-710.
- (6) SCAIFF (J.F.) et HILL (B.) - 1962 - The uncoupling of oxidative phosphorylation by ionizing radiation. Canada J. Bioch. Physiol. 40, 1025-1042.
- (7) ORD (M.G.) et STOCKEN (L.A.) - 1963 - Biochemical effects of X-irradiation and the sulphhydryl hypothesis : a re-appraisal. Nature, 200, 136-138.
- (8) PORTELA (A.) et al. - 1963 - Radiation damage in muscle cell membranes and regulation of cell metabolism. Exp. Cell Res., 29, 527-543.
- (9) BEYER (R.E.) - 1963 - Regulation of metabolism during acclimation of laboratory rats to a cold environment. Fed. Proc., 22, 874-880.

- (10) KOVALEVA (N.E.) - 1963 - Effect of cultivation temperature on sensitivity of infusoria to injurious action of X-rays.
Fed. Proc. Transl. Suppl., 22, 507-513.
- (11) HERVE (A.) et BACQ (Z.M.) - 1949 - Cyanure et dose létale de rayons X.
C.R. Soc. Biol., 143, 881-883.
- (12) TAYLOR (E.W.) - 1963 - Relation of protein synthesis to the division cycle in mammalian cell cultures.
J. Cell Biol., 19, 1-18.
- (13) JONARD (R.) - 1962 - Action de deux applications successives de rayons X sur le développement de tissus du Crown-gall du Scorsonère cultivés in vitro.
C.R. Acad. Sc., 254, 3121-3123.
- (14) BALDWIN (W.F.), SUTHERLAND (J.B.) et HABOWSKY (J.E.J.) - 1963 - Effects of X-rays on electrical activity in the eye of the cockroach Blaberus giganteus. Nature, 199, 616.
- (15) CASARETT (G.W.) - 1957 - Acceleration of aging by ionizing radiations. In Biology of Aging, Publ. n° 6, 147-152. Ed. by STREHLER Washington.
- (16) CLARCK (A.H.) - 1960 - The modification of life span by X-rays for haploids and diploids of the wasp Habrobracon. Biol. Bull. 119, 292-293.
- (17) GRASSE (P.P.) - 1935 - Parasites et parasitisme, page 43. Armand COLLIN, Paris.
- (18) WHITING (A.R.) - 1960 - Protection and recovery of the cell. In radiation Protection and Recovery, 117-156, Ed. by HOLLAENDER, New-York.
- (19) SADO (T.) - 1958 - Histological studies of radiation sensitivity of spermatogenic cells of the Silkworm (Preliminary note). Genetics (Japan), 9, 101-102.
- (20) JEFFERIES (D.J.) and CORNWELL (P.B.) - 1958 - Lethal and sterilizing effects of single and fractionated doses of gamma radiation on Calandria granaria. Nature, 182, 402-403.
- (21) GROSCH (D.S.) - 1962 - Entomological aspects of radiation as related to genetics and physiology. Ann. Rev. Entom., 7, 81-106.
- (22) HALL (C.E.), SCHNEIDER (M.) et HALL (O.) - 1962 - Increased sensitivity to X-irradiation exhibited by stressed rats.
Rad. Res., 17, 118-126.
- (23) BALDWIN (W.F.) et NARAWAY (C.A.) - 1957 - Recovery from X-ray induced sensitivity to heat in an insect (Abstract). Proc. of the First Nat. Biophys. Conf., Columbus (Ohio), New Haven, Yale University Press.

- (24) KEARNS (C.W.) - 1956 - The mode of action of insecticides. Ann. Rev. Entom., 1, 123-148.
- (25) VAN BERKUM (B.N.) - 1961 - Recovery and therapy of the irradiated organism. In Mechanisms in Radiobiology, II, 297-360. ERPERA et FORSSBERG. Academic Press, New-York and London.
- (26) SOMMER (N.F.), MINCREASY, ROMANI (J.R.), MAXIE (E.C.) - 1963 - Recovery of gamma irradiated Rhizopus solonifer sporangiospores during autoinhibition of germination. J. Cell Comp. Physiol., 61, 93-98.
- (27) KALLMAN (R.F.) - 1963 - Recovery from radiation injury : a proposed mechanism. Nature, 197, 557-560.
- (28) LEGAY (J.M.) - 1960 - Physiologie du Ver à soie. Annales de l'INRA. Hors série.
- (29) GRANDORI (R.) - 1930-1931 - Lo sviluppo embrionale del Bombyx mori. IIIa Sviluppo primaverile fino alla blastocinesi. Bull. Lab. Zool. Agr. Bachic., Milano, 111, 43-118.
- (30) LEES (A.D.) - 1955 - The physiology of diapause in Arthropods. Cambridge University Press.
- (31) FUZEAU-BRAESCH (S.) - 1961 - Déterminisme de la diapause chez les Insectes. Ann. Biol., 37, 43-69.
- (32) LEES (A.D.) - 1956 - The physiology and biochemistry of diapause. Ann. Rev. Entom., 1, 1-16.
- (33) LEGAY (J.M.) - 1962 - Caractères des processus métaboliques au cours de la diapause chez les Insectes. Annales de la Nutrition et de l'Alimentation, 16, 65-89.
- (34) HARVEY (W.R.) - 1962 - Metabolic aspects of Insect diapause. Ann. Rev. Entom., 7, 57-80.
- (35) CHINO (H.) - 1960 - Enzymatic pathways in the formation of sorbitol and glycerol in the diapausing eggs of the silkworm Bombyx mori. I - On the Polyol dehydrogenase. J. of Insect Physiol., 5, 1-15.
- (36) CHINO (H.) - 1961 - Enzymatic pathways in the formation of sorbitol and glycerol in the diapausing eggs of the silkworm Bombyx mori. II - On the Phosphatase. J. of Insect Physiol., 6, 231-240.
- (37) GILMOUR (D.) - 1961 - Biochemistry of Insects. Acad. Press, New-York and London.
- (38) WILLIAMS (C.M.) et HARVEY (W.R.) - 1958 - Physiology of Insect diapause. XI - Cyanide-sensitivity of the heart-beat of the Cecropia

silkworm, with special reference to the anaerobic capacity of the heart. Biol. Bull., II4, 23-35.

- (39) CUBELLS (A.) - 1955 - Etude de l'action de la température sur les oeufs de Bombyx mori pendant leur diapause. D.E.S. Montpellier. Revue du Ver à Soie, VII, I-237.
- (40) TEULADE (P.) - 1963 - Variations du taux de mortalité et du temps de développement embryonnaire en fonction de la durée d'hivernation chez les oeufs de Bombyx mori. C.R. Acad. Sc., 256, 4507-4509.
- (41) LAMARQUE (J.P.) et GROS (C.) - 1945 - The eggs of the Bombyx mori as material for biological research. British J. Radiol., 18, 293-297.
- (42) LAMARQUE (P.) et GARY-BOBO (J.) - 1955 - A study of recovery following exposure of part, or the whole of the body to ionizing radiations. Proc. Intern. Conf. Peaceful use of Atomic Energy, Geneva, 11, 351-361.
- (43) PAULOV (S.) - 1961 - Effect of a low temperature on the development of radiation injury in eggs of the silkworm Bombyx mori. Folia Biologica, 7, 281-284.
- (44) SINGH JOLLY (M.) - 1958 - La résistance au jeûne à la naissance des chenilles de Bombyx mori. D.E.S. Montpellier. Revue du Ver à Soie, X, 187-271.
- (45) VESSEREAU (A.) - 1960 - Méthodes statistiques en biologie et en agromonie. BAILLIERE et Fils, Paris.
- (46) CURTISS (J.H.) - 1943 - On transformations used in the analysis of variance. The Ann. Mathem. Statistics, XIV, 107-119.
- (47) FISHER (R.A.) et YATES (F.) - 1957 - Statistical tables for biological, agricultural and medical research, p. 14-15. OLIVER and BOYD, London.
- (48) LISON (L.) - 1958 - Statistique appliquée à la biologie expérimentale. GAUTHIER-VILLARS, Paris.
- (49) EMMENS (C.W.) - 1948 - Principles of biological assay, p. 149. CHAPMAN et HALL Ltd, London.
- (50) PITTENDRIGH (C.S.) - 1960-1961 - On temporal organization in living systems. The Harvey lectures, 56, 93-125.
- (51) HARKER (J.E.) - 1961 - Diurnal rythms. Ann. Rev. Entom., 6, 131-146.
- (52) LEGAY (J.M.) et TEULADE (P.) - 1962 - Sensibilité aux rayons X de la durée de développement des oeufs de Bombyx mori lorsque l'irradiation est effectuée quelques heures après le début de l'incubation. C.R. Acad. Sc., 255, 1784-1785.

- (53) STREHLER (B.L.) - 1959 - Origin and comparaison of the effects of time and high energy radiations on living systems. Quart. Rev. Biol., 34, 117-142.
- (54) UPTON (A.C.) - 1957 - Ionizing radiations and the aging process. J. Gerontol., 12, 306-313.
- (55) PRICE (L.) et KLEIN (W.H.) - 1962 - Chlorophyll synthesis in X-irradiated etiolated bean leaf tissue. Rad. Bot., 1, 269-275.
- (56) LE BERRE (J.R.) - 1957 - Caractères biologiques des Locusta de la faune de France et étude d'un exemple de diapause embryonnaire. Annales de l'INRA. Hors série.
- (57) HENNEBERRY (T.J.) et SULLIVAN (W.N.) - 1963 - Effect of gamma radiation in eggs of the Silkworm. Nature, 200, 1121-1222.

Vu :

Les Membres du Jury,

MM. NIGON

LEGAY

LAVIOLETTE

Vu et approuvé

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

J. BRACONNIER

Vu et accordé le permis d'imprimer :

LYON, le 22 avril 1964

Le Recteur,

Président du Conseil de l'Université,

P. LOUIS

